



**ESCUELA POLITÉCNICA DEL EJÉRCITO**

**CARRERA DE INGENIERÍA GEOGRÁFICA Y DEL  
MEDIO AMBIENTE**

**PROYECTO DE GRADO PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL  
TÍTULO DE INGENIERÍA**

**“ANÁLISIS DE PESTICIDAS ÓRGANOFOSFORADOS EN  
AGUA MEDIANTE CROMATOGRAFÍA DE GASES”**

**MARÍA BELÉN JARRÍN SALAS**

**SANGOLQUÍ- ECUADOR**

**JUNIO – 2011**

## CERTIFICACION

Sra. Ing. Paulina Guevara

Sra. Ing. Oliva Atiaga

### **Certifican:**

Que el trabajo titulado “Análisis de Pesticidas Órganofosforados en Agua mediante Cromatografía de Gases”, realizado por María Belén Jarrín Salas ha sido guiado y revisado periódicamente y cumple normas estatutarias establecidas por la ESPE, en el Reglamento de Estudiantes de la Escuela Politécnica del Ejército.

Debido a que este proyecto es un aporte muy importante para el Laboratorio de Medio Ambiente del Departamento de Ciencias de la Tierra y la Construcción de la Carrera de Ingeniería Geográfica y del Medio Ambiente si recomendamos su publicación.

El mencionado trabajo consta de un documento empastado y un disco compacto el cual contiene los archivos en formato portátil de Acrobat(pdf). Autorizan a María Belen Jarrín Salas que lo entregue al Ing.Francisco León, en su calidad de Coordinador de la Carrera.

Sangolquí,2 de Junio del 2011

---

Sra. Ing. Paulina Guevara

DIRECTORA

---

Sra. Ing. Oliva Atiaga

CODIRECTORA

## **DECLARACION DE RESPONSABILIDAD**

María Belén Jarrín Salas

### **Declaro que:**

El proyecto de grado denominado “Análisis de Pesticidas Órganofosforados en Agua mediante Cromatografía de Gases” ha sido desarrollado con base a una investigación exhaustiva, respetando derechos intelectuales de terceros, conforme las citas que constan al pie de las páginas correspondientes, cuyas fuentes se incorporan en la bibliografía. Consecuentemente este trabajo es de mí autoría.

En virtud de esta declaración, me responsabilizo del contenido, veracidad y alcance científico del proyecto de grado en mención.

Sangolquí, 2 de Junio del 2011.

---

**María Belén Jarrín Salas**

## **AUTORIZACIÓN**

Yo, María Belén Jarrín Salas

Autorizo a la Escuela Politécnica del Ejército la publicación, en la biblioteca virtual de la Institución del trabajo “Análisis de Pesticidas Órganofosforados en Agua mediante Cromatografía de Gases” cuyo contenido, ideas y criterios son de mi exclusiva responsabilidad y autoría.

Sangolquí, 2 de Junio del 2011.

---

**María Belén Jarrín Salas**

## **DEDICATORIA**

Me gustaría dedicar esta Tesis a todos los miembros de mi querida familia. Muy especialmente:

A mi madre por brindarme su comprensión y apoyo siempre, por transmitirme valores, principios y enseñarme a ser perseverante y más que todo darme su amor sin medida que ha sido el empuje para seguir adelante en esta vida tan llena de matices.

A mis abuelitos, por ser mi inspiración y mi alegría de vivir, por guiarme, consentirme y hacerme sentir orgullosa de la familia en que nací.

A mi Tía Moni, que siempre me dio el aliento para no desfallecer y seguir este largo camino.

A mi Tío Fernando que siempre me incentivo a seguir y perseverar para llegar a la meta.

## **AGRADECIMIENTO**

A Dios que por Él estoy cumpliendo mi destino.

A mi Abuelito Eduardo que desde el otro lado de la vida se que nunca me dejo sola y me ayudo para cumplir con este objetivo.

A mi madre por ser la guía y amiga más sincera.

A mis maestras y guías en este proyecto Ing. Paulina Guevara e Ing. Oliva Atiaga que con paciencia me han brindado sus conocimientos para poder finalizar esta meta.

A mis amigos que siempre estuvieron dándome su apoyo y amistad sincera.

## INDICE DE CONTENIDO

<b>CERIFICACION</b> -----	<b>II</b>
<b>DECLARACION DE RESPONSABILIDAD</b> -----	<b>III</b>
<b>AUTORIZACION</b> -----	<b>IV</b>
<b>DEDICATORIA</b> -----	<b>V</b>
<b>AGRADECIMINETO</b> -----	<b>VI</b>
<b>NOMENCLATURA UTILIZADA</b> -----	<b>XIII</b>
<b>RESUMEN</b> -----	<b>XIV</b>
<b>SUMMARY</b> -----	<b>XV</b>

### **CAPITULO I**

#### **INTRODUCCION**

1.1 INTRODUCCIÓN AL PROYECTO-----	16
1.2 OBJETIVO GENERAL-----	16
1.3 OBJETIVOS ESPECÍFICOS-----	17
1.4 DEFINICION DEL PROBLEMA-----	17
1.5 METAS-----	18

### **CAPITULO II**

#### **MARCO TEÓRICO**

2.1 Pesticidas-----	19
2.2 Clasificación-----	20
2.2.1 Pesticidas Órganofosforados-----	21
2.2.2 Pesticidas Órganoclorados-----	25
2.2.3 Pesticidas Carbamatos-----	28
2.2.4 Piretroides-----	29
2.3 Uso de los Pesticidas-----	30
2.4 Análisis de Pesticidas-----	31
2.5 Cuantificación de Pesticidas-----	34
2.5.1 Cromatografía de Gases-----	34
2.5.2 Cromatografía Líquida-----	41
2.6 Aspectos Legales de los Pesticidas-----	42
2.7. Validación y Análisis Estadístico-----	44

### **CAPITULO III**

#### **MÉTODOS Y PROCEDIMIENTOS**

3.1 EQUIPOS-----	60
3.2 MATERIALES-----	61
3.3 REACTIVOS, ESTANDARES Y DISOLUCIONES-----	62
3.3.1 Reactivos-----	62
3.3.2 Estándares-----	62
3.3.3 Disoluciones-----	62
3.3.4 Preparación de Muestra de Agua Fortificada-----	64

3.4 PROTOCOLO DE ANÁLISIS-----	65
3.4.1 Recolección de la Muestra-----	65
3.4.2 Proceso de Extracción-----	65
3.4.3 Proceso de Purificación o Clean-Up-----	66
3.4.4 Proceso de Concentrado y Almacenamiento-----	66
3.4.5 Cuantificación mediante Cromatografía Gaseosa-----	67
3.4.7 Validación de Métodos Analíticos-----	68
<b>CAPITULO IV</b>	
<b>DATOS EXPERIMENTALES</b>	
4.1 Valores de Áreas de las soluciones fortificadas-----	70
4.2 Valores de Áreas de las soluciones de Calibración-----	72
4.3 Valores de Área de Blancos-----	75
<b>CAPITULO V</b>	
<b>CÁLCULOS Y RESULTADOS</b>	
5.1 Curva de Calibración del Equipo-----	76
5.2 Cálculo de Concentración de Soluciones Fortificadas-----	81
5.3 Cálculo de Parámetros de Validación-----	86
5.3.1 Linealidad-----	86
5.3.2 Precisión (Repetibilidad y Reproducibilidad)-----	89
5.3.3 Límite de Detección y Cuantificación-----	92
5.3.4 Intervalo de Trabajo-----	94
5.3.5 Incertidumbre del Método-----	94
5.3.6 Porcentaje de Recuperación-----	110
5.3.7 Resultados Globales-----	111
<b>CAPITULO VI</b>	
<b>DISCUSIÓN DE RESULTADOS</b>	
Discusión de Resultados-----	114
<b>CAPITULO VII</b>	
<b>CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES</b>	
7.1 Conclusiones-----	117
7.2 Recomendaciones-----	119
<b>BIBLIOGRAFÍA-----</b>	<b>120</b>
<b>ANEXOS-----</b>	<b>122</b>
<b>Método EPA 614.1 (A1)</b>	
<b>Cromatogramas (A2)</b>	
<b>GLOSARIO DE TERMINOS-----</b>	<b>123</b>
<b>BIOGRAFIA DE AUTOR-----</b>	<b>124</b>
<b>HOJA DE LEGALIZACION DE FIRMAS-----</b>	<b>125</b>



## INDICE DE TABLAS

Tabla 2.1 Clasificación de Pesticidas-----	20
Tabla 2.2 Nombres Comunes y Comerciales de Pesticidas Órganofosforados-----	22
Tabla 2.3 Propiedades Fisicoquímicas de los Pesticidas Órganofosforados-----	23
Tabla 2.4 Nombres Comunes y Comerciales de Pesticidas Órganoclorados-----	26
Tabla 2.5 Propiedades Fisicoquímicas de los Pesticidas Órganoclorados-----	27
Tabla 2.6 Nombres Comunes y Comerciales de Pesticidas Carbamatos-----	28
Tabla 2.7 Nombres Comunes y Comerciales de Pesticidas Piretroides-----	29
Tabla 2.8 Uso de Pesticidas-----	30
Tabla 2.9 Disolventes de Extracción-----	32
Tabla 2.10 Lista de Pesticidas de la Comunidad Europea-----	42
Tabla 2.11 Límite Máximo Permisible en Agua de Consumo Humano Domestico-----	43
Tabla 2.12 Parámetros para Tipo de Ensayo-----	46
Tabla 2.13 Análisis Simple de Varianza-----	48
Tabla 3.1 Pesticidas Órganofosforados. Concentración e Incertidumbre-----	62
Tabla 3.2 Concentración de Muestra de Agua Fortificada y Concentrada-----	65
Tabla 3.3 Condiciones Cromatográficas para pesticidas órganofosforados-----	67
Tabla 4.1 Valores de áreas de las soluciones fortificadas del Dichlorvos (DDVP)-----	70
Tabla 4.2 Valores de áreas de las soluciones fortificadas del Mevinphos (phosdrin)---	70
Tabla 4.3 Valores de áreas de las soluciones fortificadas del Ethoprophos-----	71
Tabla 4.4 Valores de áreas de las soluciones fortificadas del Methylparaoxon (Parathion)-----	71
Tabla 4.5 Valores de áreas de las soluciones fortificadas del Chlorpyrifos(Dursban)---	71
Tabla 4.6 Valores de áreas de las soluciones fortificadas del Stirofos (Tetrachlorvinphos)-----	72
Tabla 4.7 Valores de áreas de las soluciones fortificadas del Disulfoton Sulfon-----	72
Tabla 4.8 Valores de área de solucione de calibración del Dichlorvos (DDVP)-----	72
Tabla 4.9 Valores de área de solucione de calibración del Mevinphos (phosdrin)-----	73
Tabla 4.10 Valores de área de solucione de calibración del Ethoprophos-----	73
Tabla 4.11 Valores de área de solucione de calibración del Methylparaoxon (Parathion)-----	73
Tabla 4.12 Valores de área de solucione de calibración del Chlorpyrifos(Dursban)-----	74
Tabla 4.13 Valores de área de solucione de calibración del Stirofos (Tetrachlorvinphos)-----	74
Tabla 4.14 Valores de área de solucione de calibración del Disulfoton Sulfon-----	74
Tabla 4.15 Valores de área de Blancos-----	75
Tabla 5.1 Área promedio de soluciones de calibración de Dichlorvos (DDVP)-----	76
Tabla 5.2 Área promedio de soluciones de calibración del Mevinphos (phosdrin)-----	77
Tabla 5.3 Área promedio de soluciones de calibración del Ethoprophos-----	77
Tabla 5.4 Área promedio de soluciones de calibración del Methylparaoxon (Parathion)-----	78
Tabla 5.5 Área promedio de soluciones de calibración del Chlorpyrifos(Dursban)-----	79
Tabla 5.6 Área promedio de soluciones de calibración del Stirofos(Tetrachlorvinphos)	79
Tabla 5.7 Área promedio de soluciones de calibración del Disulfoton Sulfon-----	80
Tabla 5.8 Valores de Concentración del Dichlorvos (DDVP)-----	81

Tabla 5.9 Valores de Concentración del Mevinphos (phosdrin)-----	81
Tabla 5.10 Valores de Concentración del Ethoprophos-----	82
Tabla 5.11 Valores de Concentración del Methylparaoxon(Parathion)-----	82
Tabla 5.12 Valores de Concentración del Chlorpyrifos(Dursban)-----	82
Tabla 5.13 Valores de Concentración del Stirofos(Tetrachlorvinphos)-----	82
Tabla 5.14 Valores de Concentración del Disulfoton Sulfon-----	83
Tabla 5.15 Valores de Concentración de Blancos-----	83
Tabla 5.16 Valores Promedio de Concentración de Blancos-----	84
Tabla 5.17 Valores Promedio de Concentración del Dichlorvos (DDVP)-----	84
Tabla 5.18 Valores Promedio de Concentración del Mevinphos (phosdrin)-----	85
Tabla 5.19 Valores Promedio de Concentración del Ethoprophos-----	85
Tabla 5.20 Valores Promedio de Concentración del Methylparaoxon(Parathion)-----	85
Tabla 5.21 Valores Promedio de Concentración del Chlorpyrifos(Dursban)-----	85
Tabla 5.22 Valores Promedio de Concentración del Stirofos(Tetrachlorvinphos)-----	86
Tabla 5.23 Valores Promedio de Concentración del Disulfoton Sulfon-----	86
Tabla 5.24 Cálculo de la Curva de Ajuste del Dichlorvos (DDVP)-----	86
Tabla 5.25 Pendiente y Coordenada al origen de los compuestos organofosforados-	87
Tabla 5.26 Cálculo para determinar la desviación del Dichlorvos (DDVP)-----	88
Tabla 5.27 Valores de Desviaciones-----	88
Tabla 5.28 Valores de Coeficiente de Correlación-----	89
Tabla 5.29 Análisis de Simple Varianza del Dichlorvos (DDVP)-----	90
Tabla 5.30 Valores de Precisión de Compuestos Organofosforados a nivel de de 0,001ppm-----	91
Tabla 5.31 Valores de Precisión de Compuestos Organofosforados a nivel de de 0,01ppm.-----	91
Tabla 5.32 Valores de Precisión de Compuestos Organofosforados a nivel de de 0,014ppm-----	92
Tabla 5.33 Límite de Detección y Cuantificación-----	93
Tabla 5.34 Incertidumbre de Materiales-----	94
Tabla 5.35 Incertidumbre del Dichlorvos (DDVP) en la preparación de Estándares-	96
Tabla 5.36 Incertidumbre del Mevinphos (phosdrin) en la preparación de Estándares	96
Tabla 5.37 Incertidumbre del Ethoprophos en la preparación de Estándares-----	96
Tabla 5.38 Incertidumbre del Methylparaoxon(Parathion) en la preparación de Estándares-----	97
Tabla 5.39 Incertidumbre del Chlorpyrifos(Dursban) en la preparación de Estándares	97
Tabla 5.40 Incertidumbre de Stirofos(Tetrachlorvinphos)en preparación de Estándares	97
Tabla 5.41 Incertidumbre del Disulfoton Sulfon en la preparación de Estándares-----	98
Tabla 5.42 Incertidumbre del Dichlorvos (DDVP)-----	98
Tabla 5.43 Incertidumbre del Mevinphos (phosdrin)-----	99
Tabla 5.44 Incertidumbre del Ethoprophos-----	99
Tabla 5.45 Incertidumbre del Methylparaoxon(Parathion)-----	99
Tabla 5.46 Incertidumbre del Chlorpyrifos(Dursban)-----	99
Tabla 5.47 Incertidumbre del Stirofos(Tetrachlorvinphos)-----	100
Tabla 5.48 Incertidumbre del Disulfoton Sulfon-----	100
Tabla 5.49 Incertidumbre Expandida del Dichlorvos (DDVP) en la preparación de las diluciones estándar-----	100

Tabla 5.50 Incertidumbre Expandida del Mevinphos (phosdrin) en la preparación de las diluciones estándar-----	101
Tabla 5.51 Incertidumbre Expandida del Ethoprophos en la preparación de las diluciones estándar-----	101
Tabla 5.52 Incertidumbre Expandida del Methylparaoxon(Parathion) en la preparación de las diluciones estándar-----	101
Tabla 5.53 Incertidumbre Expandida del Chlorpyrifos(Dursban)en la preparación de las diluciones estándar-----	102
Tabla 5.54 Incertidumbre Expandida del Stirofos(Tetrachlorvinphos)en la preparación diluciones estándar-----	102
Tabla 5.55 Incertidumbre Expandida del Disulfoton Sulfon en la preparación de las diluciones estándar-----	102
Tabla 5.56 Incertidumbre Expandida del Dichlorvos (DDVP) en la preparación de las soluciones fortificadas-----	103
Tabla 5.55 Incertidumbre Expandida del Mevinphos (phosdrin) en la preparación de las soluciones fortificadas-----	103
Tabla 5.58 Incertidumbre Expandida del Ethoprophos en la preparación de las soluciones fortificadas-----	103
Tabla 5.59 Incertidumbre Expandida del Methylparaoxon(Parathion) en la preparación de las soluciones fortificadas-----	104
Tabla 5.60 Incertidumbre Expandida del Chlorpyrifos(Dursban)en la preparación de las soluciones fortificadas-----	104
Tabla 5.61 Incertidumbre Expandida del Stirofos(Tetrachlorvinphos)en la preparación soluciones fortificadas-----	104
Tabla 5.62 Incertidumbre Expandida del Disulfoton Sulfon en la preparación de las soluciones fortificadas-----	104
Tabla 5.63 Contribución a la Incertidumbre de la solución estándar del Dichlorvos (DDVP)-----	105
Tabla 5.64 Contribución a la Incertidumbre de la solución estándar del Mevinphos (phosdrin)-----	106
Tabla 5.65 Contribución a la Incertidumbre de la solución estándar del Ethoprophos-----	106
Tabla 5.66 Contribución a la Incertidumbre de la solución estándar del Methylparaoxon (Parathion) -----	106
Tabla 5.67 Contribución a la Incertidumbre de la solución estándar del Chlorpyrifos (Dursban)-----	106
Tabla 5.68 Contribución a la Incertidumbre de la solución estándar del Stirofos(Tetrachlorvinphos)-----	107
Tabla 5.69 Contribución a la Incertidumbre de la solución estándar del Disulfoton Sulfon-----	107
Tabla 5.70 Contribución a la Incertidumbre de la Exactitud del Equipo-----	107
Tabla 5.71 Incertidumbre Estándar de Compuestos órganofosforados-----	108
Tabla 5.72 Incertidumbre total expandida absoluta de compuestos órganofosforados-----	109
Tabla 5.73 Incertidumbre total expandida relativa de compuestos órganofosforados-----	110
Tabla 5.74 Porcentaje de Recuperación con respecto a 1ppm-----	111
Tabla 5.75 Porcentaje de Recuperación con respecto a 10 ppm-----	111
Tabla 5.76 Porcentaje de Recuperación con respecto a 14ppm-----	111
Tabla 5.77 Resultados Globales -----	112

## INDICE DE FIGURAS

Figura 2.1 Modo Split-----	36
Figura 2.2 Modo Split-Less-----	37
Figura 2.3 Detector de Ionización de Llama-----	39
Figura 2.4 Detector de Captura de Electrones-----	40
Figura 3.1 Cromatógrafo de Gases Perkin Elmer Clarus 500-----	60
Figura 3.2 Balanza Analítica-----	61
Figura 3.3 Estufa-----	61
Figura 3.4 Extracción Líquido-Líquido-----	66
Figura 3.5 Purificación o Clean-Up-----	66
Figura 3.6 Cromatograma de Pesticidas Órganofosforados-----	68
Figura 5.1 Gráfica de Área de Dichlorvos(DDVP) vs. Concentración-----	76
Figura 5.2 Gráfica de Área de Mevinphos (phosdrin) vs. Concentración-----	77
Figura 5.3 Gráfica de Área de Ethoprophos vs. Concentración-----	78
Figura 5.4 Gráfica de Área de Methylparaoxon (Parathion) vs. Concentración-----	78
Figura 5.5 Gráfica de Área del Chlorpyrifos (Dursban) vs. Concentración-----	79
Figura 5.6 Gráfica de Área del Stirofos (Tetrachlorvinphos) vs. Concentración-----	80
Figura 5.7 Gráfica de Área del Disulfoton Sulfon vs. Concentración-----	80
Figura 6.1 Límite de Detección de Pesticidas Órganofosforados-----	115
Figura 6.2 Límite de Cuantificación de Pesticidas Órganofosforados-----	115
Figura 6.3 Porcentaje de Recuperación-----	116

## NOMENCLATURA UTILIZADA

°C	Grado Centígrado
ECD	Detector de Captura de Electrones
EPA	Environmental Protection Agency
FAO	Food and Agricultural Organization
FID	Detector de Ionización de Llama
GC	Cromatografía de Gases
LLE	Extracción Líquido-Líquido
Lt	Litro
LMA	Laboratorio de Medio Ambiente
MS	Detector de Espectrofotometría de Masas
m	Metro
mg/L	Miligramos por Litro, volumen
mm	Milimetro
NPD	Detector de Nitrógeno Fósforo
pH	Potencial Hidrógeno
PPC	Control Neumatico de Presión
ppm	Partes por Millón
OC	Pesticidas Organoclorados
OP	Pesticidas Organósforados
OMS	Organización Mundial de la Salud
SNC	Sistema Nervioso Central
SPME	Microextracción en Fase Sólida
TCD	Detector de Conductividad Térmica
TULAS	Texto Unificado de Legislación Ambiental Secundaria
µL	Microlitro, unidad de volumen
µg/L	Microgramos por Litro, en volumen

## RESUMEN

Los pesticidas órganofosforados se usan en todo el mundo para controlar una gran variedad de insectos, así como también hongos, aves, mamíferos y plantas herbáceas.

El presente estudio tiene por objeto describir el protocolo para la determinación de siete pesticidas órganofosforados (Dichlorvos (DDVP), Mevinphos (phosdrin), Ethoprophos, Methylparaoxon (Parathion), Chlorpyrifos(Dursban), Stirofos(tetrachlorvinphos), Disulfoton Sulfon) en agua mediante extracción líquido-líquido con hexano y diclorometano como solventes de extracción, y posterior cuantificación por cromatografía de gases con Detector Nitrógeno Fósforo (NPD) basado en el método de la Agencia de Protección Ambiental de Los Estados Unidos EPA 614.1.

El estudio de validación de este proyecto se basa en el análisis de muestras de agua, fortificadas a tres niveles de concentración (0,001ppm; 0,010ppm y 0,014 ppm) y por triplicado con un intervalo de trabajo de 0,0009ppm a 0,020ppm.

Los parámetros estadísticos a evaluar para la validación del método analítico son, linealidad, desviaciones de repetibilidad y reproducibilidad, límite de detección y cuantificación, incertidumbre y porcentaje de recuperación.

Después de concluido el análisis los resultados de linealidad a través del coeficiente de correlación (r) dan en un rango de 0,882 a 0,941; las desviaciones de repetibilidad y reproducibilidad presentan valores entre 0,1 y 0,5. El límite de detección fue de 0,0005ppm a 0,0009ppm y cuantificación entre 0,0007ppm y 0,001ppm. La incertidumbre expandida relativa presentó valores entre un 18% a 44%. Los porcentajes de recuperación del método fueron entre el 25% al 90%.

## SUMMARY

Organophosphate pesticides are used worldwide to control a wide variety of insects, as well as fungi, birds, mammals and herbaceous plants.

The present study is to describe the protocol for the determination of seven organophosphorus pesticides (Dichlorvos (DDVP), mevinphos (Phosdrin) Ethoprophos, Methylparaoxon (Parathion), Chlorpyrifos (Dursban), Stirofos (tetrachlorvinphos), Disulfoton sulfone) in water by liquid-liquid extraction with hexane and dichloromethane as solvent extraction and subsequent quantification by gas chromatography with nitrogen phosphorus detector (NPD) based on the method of the Environmental Protection Agency the U.S. EPA 614.1.

The validation study of this project is based on the analysis of water samples fortified at three concentration levels (0.001 ppm, 0.010 ppm and 0.014 ppm) and in triplicate with a work interval between 0,0008ppm to 0,020ppm.

The statistical parameters to be evaluated for analytical method validation are linearity, deviations of repeatability and reproducibility, limit of detection and quantification, range work, uncertainty and rate of recovery.

After completion of the analysis the results of linearity across the correlation coefficient (r) given in a range from 0.882 to 0.941, the deviations of repeatability and reproducibility have values between 0.1 and 0.5. The limit of detection was from 0,0005ppm to 0,0009ppm and the quantification range between 0.0007 ppm and 0,001 ppm. The relative expanded uncertainty presented values between 18% to 44%. The recoveries of the method were between 25% to 90%.

# **CAPITULO I**

## **INTRODUCCIÓN**

### **1.1 INTRODUCCIÓN AL PROYECTO**

El uso de pesticidas se masificó a partir de la segunda guerra mundial y está estrechamente vinculado con los cambios introducidos en los modelos de producción y cultivo que duplicaron la productividad de la agricultura respecto al resto de la economía a nivel mundial.<sup>1</sup>

Los pesticidas en la salud humana causan diversos daños principalmente en el aparato respiratorio, así como también en el sistema digestivo causando dolores abdominales intensos, náuseas, vómito y dificultad respiratoria, entre otros.

Las diferentes actividades industriales principalmente agrícolas han incorporado al medio ambiente estos compuestos, la migración de plaguicidas en aguas y suelos son su movilidad y persistencia. Los plaguicidas deben ser suficientemente móviles como para alcanzar su objetivo y suficientemente persistentes como para eliminar el organismo específicamente atacado.

Estas dos cualidades no son deseables desde un punto de vista ambiental.<sup>2</sup>

### **1.2 OBJETIVO GENERAL**

- Desarrollar métodos validados de Análisis de Pesticidas Organofosforados mediante la técnica de cromatografía de gases en agua.



### 1.3 OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Desarrollar los procedimientos técnicos internos para el Laboratorio de Medio Ambiente (LMA) para el tratamiento previo de las muestras y el análisis de los pesticidas organofosforados mediante la técnica de cromatografía de gases.
- Validar los procedimientos de análisis de pesticidas organofosforados mediante la técnica de cromatografía de gases.
- Estimar la incertidumbre de medición del análisis de pesticidas mediante la técnica de cromatografía de gases.

### 1.4 DEFINICION DEL PROBLEMA

Aunque resulta innegable que los pesticidas han beneficiado la producción agrícola y el combate de enfermedades humanas y animales, como la malaria, la fiebre amarilla, el dengue y numerosas parasitosis externas e internas, el uso continuo y desaprensivo de agrotóxicos y la ausencia de normas efectivas de prevención determinaron la aparición de problemas que inciden sobre la salud humana y la supervivencia de numerosas especies.

Simultáneamente con el aumento del uso de pesticidas, crecieron muy significativamente los accidentes y enfermedades asociadas. Según datos de la OMS, anualmente se intoxican dos millones de personas por exposición directa o indirecta a plaguicidas. De ese total, las 3/4 partes de afectados pertenecen a los países subdesarrollados, donde únicamente se utiliza el 25% de la producción mundial de pesticidas. <sup>1</sup>

---

1. Pesticidas, Salud y Ambiente, *Silvia Olivera Bravo y Daniel Rodríguez-Ithurralde*

2. Lección 22. Plaguicidas, Universidad Jaime.

En el Ecuador, son pocos los laboratorios que realizan análisis de pesticidas órgano fosforados en agua mediante la técnica de cromatografía de gases, por lo que el Laboratorio de Medio Ambiente (LMA) de la Escuela Politécnica del Ejército que desde el año 2009 está en proceso de acreditación está empeñado en el desarrollo de estos procedimientos cuya importancia en la salud humana es vital ya que los efectos indeseados producidos dependen del pesticida, la dosis, la vía y el tiempo de exposición.

### **1.5 METAS**

- Documentar los procedimientos técnicos internos del LMA para el tratamiento previo de las muestras y los análisis realizados en pesticidas organofosforados en aguas mediante la técnica de cromatografía de gases de acuerdo a los formatos del manual de calidad del LMA.
- Elaborar los reportes y la declaración de los métodos técnicos de validación, de acuerdo a los formatos del manual de calidad del LMA.
- Generar la hoja de cálculo del LMA para el cálculo de la incertidumbre y los parámetros de validación.

## CAPÍTULO II

### MARCO TEÓRICO

#### 2.1 Pesticidas

La Organización de Naciones Unidas a través de la “*Food and Agricultural Organization*” (FAO) define el término plaguicida como cualquier sustancia o mezcla de sustancias destinadas a prevenir, destruir o controlar cualquier plaga.<sup>3</sup>

La Real Academia de la Lengua Española define la palabra “plaguicida” (plaga y cida) como el agente que combate las plagas del campo; en tanto que *plago* (del latín *plago*, *llaga*), es calamidad grande que aflige a un pueblo, en sentido figurado azote que aflige a la agricultura. Sin embargo para designar a estos compuestos se emplea con más frecuencia la palabra “pesticida” (tomada del inglés o del francés *Pesticide*), término que es incorrecto, pues peste es una enfermedad infecciosa y contagiosa que causa gran mortandad, y es producida por el bacilo pestoso de Yersin. Pero dado que el término pesticida está totalmente generalizado y aceptado, se utiliza el término plaguicida o pesticida indistintamente.<sup>4</sup>

El Real Decreto 3349/83 de 30 de noviembre de 1983 sobre "Reglamentación técnico-sanitaria para la fabricación, comercialización y utilización de plaguicidas" en España define o pesticida como aquellas sustancias o ingredientes activos, así como las formulaciones o preparados que contengan uno o varios de ellos destinados a cualquiera de los fines siguientes:

- Combatir los agentes nocivos para los vegetales y productos o prevenir su acción.
- Favorecer o regular la producción vegetal, con excepción de los nutrientes y los destinados a la enmienda de suelos.
- Conservar los productos vegetales, incluida la protección de maderas.
- Destruir los vegetales indeseables.
- Destruir parte de los vegetales o prevenir un crecimiento indeseable de los mismos.
- Hacer inofensivos, destruir o prevenir la acción de otros organismos nocivos o indeseables distintos de los que atacan a vegetales.

## 2.2 Clasificación

Los plaguicidas pueden clasificarse de muchas formas. En la tabla 2.1 se resume los principales tipos de clasificación de pesticidas.<sup>5</sup>

Tabla 2.1 Clasificación de Pesticidas <sup>5</sup>

Por su Composición Química	Órganofosforados, Órganoclorados, Carbamatos, Piretroides
De acuerdo al Organismo que controlan	Insecticidas, fungicidas, herbicidas, nematocidas, rodenticidas, , avicidas, acaricidas, entre otros
Por su Forma de Acción	Inmediata, Residual
Por su forma de Aplicación	Fumigante, depósito, polvos, adhesivos, láminas
Por su forma de Penetración	Digestivos, Respiratorios, Tegumentarios, Deshidratantes
Por su Formulación	Puros, aerosoles, rocíos, suspensiones, emulsiones

3. FAO, *Food and Agricultural Organization* Organización de Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación

4. Toxicología Analítica de los Plaguicidas, J.S. Durand, P. Fernández, R.M. Garcinuno.

5. Plaguicidas: clasificación, uso, toxicología y medición de la exposición, Ramírez, J. A.\* y Lacasaña, M.

La clasificación a desarrollarse es la referente a su composición química:

### 2.2.1 Pesticidas Órganofosforados

#### Características y Propiedades

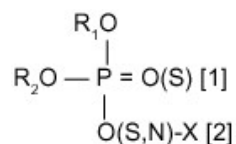
Los pesticidas órganofosforados (OP) son compuestos derivados del ácido fosfórico, utilizados para controlar las plagas, que atacan los cultivos o eliminan insectos que actúan como vectores de enfermedades. Se descomponen con mayor facilidad y son menos persistentes en el ambiente que los órganoclorados pero más peligrosos para el hombre debido a que tienen un alto grado de toxicidad.

Muchos de ellos son sistémicos, es decir, que son absorbidos por plantas e introducidos en el sistema vascular de los vegetales, actuando tanto en los insectos chupadores como en el hombre que ingiere el alimento, aunque este sea previamente lavado. Ej: Dimetoato, Fosfamidón.

La vida media de los órganofosforados y sus productos de biotransformación es relativamente corta (horas a días).

La eliminación tiene lugar por la orina y en menor cantidad por las heces y el aire expelido. Son biodegradables y no se acumulan en el organismo.

La fórmula estructural general de estos compuestos, es la siguiente:



En la que R1 y R2 son radicales alquilo, generalmente metilo o etilo, el grupo X es característico de cada especie química, siendo frecuentemente un radical arilo, y suele

contribuir de forma importante a sus propiedades físicas y químicas y biológicas. A tenor de los elementos concretos que ocupen determinadas posiciones en la molécula, los órganofosforados se pueden dividir en 14 grupos, de los que los más importantes son: fosfatos, con un O en las posiciones [1] y [2]; O-fosforotioatos (o tionatos), con un S en [1] y un O en [2], S-fosfortioatos (o tiolatos), con un S en [2] y un O en [1]; fosforoditioatos (o tiolotionatos), con un S en [1] y en [2]; fosfonatos, con R1 (en lugar de R1O), y fosforoamidatos, con un O en [1] y un N en [2].

A continuación se presentan ejemplos de nombres comerciales y comunes de pesticidas órganofosforados más conocidos:

**Tabla 2.2 Nombres comunes y comerciales de Pesticidas Órganofosforados<sup>4</sup>**

<b>Nombre Común</b>	<b>Nombre Comercial</b>
Pirimiphos-methyl	Actellic
Pyrazophos	Afugan
Fenitrothion	Agrotion
Coumaphos	Asuntol-Co-Ral
Fenthion	Baytex,Lebaycid
Dicrotophos	Bidrin
Phenthoate	Cidial 50L
Terbuphos	Counter
Profenophos	Curacron,Tambo
Azinphos-methyl	Gusathion
Triazophos	Hostathion
Isoxathion	Karphos
Malathion	Malxon,Carbofos,Cythion
Ethoprop	Mocap
Fenamiphos	Nemacur
Diazinon	Spectracide Diazinon,Basodin
Methamidophos	Tamaron,Methamidofos,Monitor,M.T.D.
Tetrachlorvinphos	Tetraclorvinfos,Gardona
Parathion	Thiophos,Folidol,Bladan
Triclorphon	Triclorphon,Dipterex

DDVP,Dichlorvos	Vapona
-----------------	--------

Los pesticidas órganofosforados son marcadamente apolares, lo que significa que desde el punto de vista químico 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 órganofosforados depende del pH del medio; a pH fuertemente alcalino se descomponen, lo que puede ser utilizado para destruirlos.<sup>4</sup>

Las propiedades físico químicas más importantes de los pesticidas órganofosforados se presentan en la tabla 2.2.<sup>6</sup>

**Tabla 2.3 Propiedades fisicoquímicas de pesticidas órganofosforados<sup>6</sup>**

<b>ORGANOFOSFORADO</b>	
<i>Estabilidad</i>	Muy baja
<i>Persistencia</i>	baja
<i>Efectos bioacumulativo</i>	no posee
<i>Toxicidad aguda</i>	alta
<i>Costo</i>	alto
<i>Selectividad</i>	alta

### Aspectos Toxicológicos de los Pesticidas Órganofosforados

El mecanismo de toxicidad humana es a través de la inhibición de la actividad de la acetilcolinesterasa debido a la formación de un enlace directo con la enzima, produciendo un aumento de la acetilcolina en la sinapsis del nervio.

4. Toxicología Analítica de los Plaguicidas, J.S. Durand,P.Fernandez,R.M.Garcinuno.

6. Toxicología y Química Legal .Plaguicidas.Universidad Nacional del la Plata-Argentina.

Los efectos que de una manera general se observan a consecuencia de la exposición a organofosforados son, en gran parte, resultado de la combinación del tipo de exposición (aguda/crónica), la intensidad (dosis o concentración) y la/s especie/s química/s implicadas (categoría toxicológica) pudiéndose agrupar en los siguientes tipos:

- Exposición aguda. Efectos inmediatos y retardados
- Exposición repetida o crónica. Efectos agudos y crónicos
- Exposición aguda/crónica. Efectos permanentes

### Exposición Aguda

- Efectos inmediatos

En este tipo de intoxicaciones se presentan signos y síntomas correspondientes a manifestaciones que se clasifican en tres tipos: muscarínicas, nicotínicas, y del sistema nervioso central (SNC), a consecuencia de la acumulación de la acetilcolina en los receptores.

Mucarínicas:

Gastrointestinales: Vómitos, eructos, calambres, diarreas, tenesmo e incontinencia.

Respiratorios: Opresión torácica, tos, broncorrea, disnea, cianosis, edema pulmonar.

Vesicales: Poliaquiuria e incontinencia.

Otros: Sudoración, xialorrea, visión borrosa y bradicardia.

Nicotínicas:

Napsis ganglionares: Cefalea, hipertensión pasajera, mareos, palidez, taquicardia.

Placa motora: Calambres, debilidad generalizada (músculo respiratorio); fasciculaciones, mialgia, parálisis flácida.

Sistema Nervioso Central:

Ansiedad, ataxia, cefalea, coma, confusión, convulsiones, depresión del centro respiratorio y circulatorio, perturbación mental, irritabilidad y somnolencia.



- Efectos retardados
- Los síntomas empiezan en el hombre entre 1 y 3 semanas después de la exposición aguda (y al cabo de un periodo más incierto cuando la exposición es crónica), retraso que está relacionado con la dosis del agente tóxico y con su naturaleza química.

#### Exposición Repetida o Crónica

- Efectos agudos

Los efectos agudos en la exposición repetida, tal como se ha comentado anteriormente, son consecuencia de la inhibición progresiva de la acetilcolinesterasa, que cuanto más lenta es más tardan las manifestaciones de tipo muscarínico o nicotínico en presentarse.

#### Exposición Aguda/Crónica

- Efectos permanentes

Incluyen una disminución de la velocidad de conducción nerviosa sensorial y un aumento de la densidad de las fibras, descenso en distintas funciones y habilidades de tipo intelectual (capacidades de tipo cognitivo) y descenso persistente de la funcionalidad neuropsicológica (incluyendo la atención acústica, atención verbal, memoria visual, velocidad visuomotora, secuenciación y solución de problemas, estabilidad motora, reacción, destreza).<sup>7</sup>

### **2.2.2 Pesticidas Órganoclorados**

#### Características y Propiedades

Los pesticidas órganoclorados (OC) se clasifican en varias familias, entre ellos, el DDT y sus análogos (metoxicloro, dicofol, clorobenzilato), los isómeros del hexaclorociclohexano (lindano), y los compuestos clorados policíclicos (aldrin, dieldrin, endrin, clordano, heptacloro, endosulfan).

---

7. Plaguicidas Órganofosforados Parte 2. Ministerio de Trabajo y asuntos sociales de España. Institución Nacional de Higiene en el Trabajo.

Las características de estos compuestos han hecho una de las familias de pesticidas más estudiadas desde que empezaron a emplearse como insecticidas. Cabe destacar que son sustancias que proceden de actividades realizadas por el hombre y que los podemos encontrar, a menudo, en muestras ambientales. Se caracterizan porque se degradan muy lentamente en el medio ambiente. Esto hace que se los considere como contaminantes bastante persistentes. Otra característica es que son sustancias hidrófobas, tienen una gran afinidad por los lípidos. Esto explica el que se acumulen fácilmente en los organismos vivos.

Aunque hoy día está prohibida la utilización de muchos de ellos, debido a su persistencia, aun se pueden detectar como contaminantes en muchas muestras.

Este tipo de compuestos se puede encontrar en concentraciones muy diversas, y según su procedencia, se puede agrupar en: formulaciones (productos comerciales concentrados), muestras biológicas (sangre/suero, orina, contenido gástrico) y muestras ambientales (sedimentos, tierra, agua, lixiviados, etc.)

En general, se puede considerar que en el primer grupo tendremos muestras con concentraciones elevadas de pesticidas, en las que el problema puede ser diluir, mientras que en los otros dos grupos las concentraciones suelen ser bajas y hay que concentrar.

A continuación se presentan ejemplos de nombres comerciales y comunes de pesticidas órganoclorados más conocidos:

**Tabla 2.4 Nombres comunes y comerciales de Pesticidas Órganoclorados<sup>4</sup>**

<b>Nombre Común</b>	<b>Nombre Comercial</b>
DDT	DDT, Matador
Endrín	Endrín
Aldrín	Aldrín
Mirex	Mirex
Dieldrín	Dieldrín
Lindano	Lindano, Gamma BHC

4. Toxicología Analítica de los Plaguicidas, J.S. Durand, P. Fernández, R.M. Garcinuno.

Heptaclo	Heptaclo, Clorahep
Metoxiclo	Metoxiclo, Marlate
Hexaclo Benceno	BHC
Pentaclofenol	Pentaclofenol, Dowcide
Endusulfan	Endusulfan, Thiodan
Toxafeno	Toxafeno
Clordano	Clordano
Heptaclo	Heptaclo

Las propiedades físico químicas más importantes de los pesticidas órganoclorados se presentan en la tabla 2.5.<sup>6</sup>

**Tabla 2.5 Propiedades fisicoquímicas de pesticidas órganoclorados <sup>6</sup>**

<b>ORGANOCORADOS</b>	
<i>Estabilidad</i>	Elevada
<i>Persistencia</i>	Alta
<i>Efectos bioacumulativo</i>	Muy Grande
<i>Toxicidad aguda</i>	Baja
<i>Costo</i>	Bajo
<i>Selectividad</i>	Baja

### Aspectos Toxicológicos de los Pesticidas Órganoclorados

Actúan por inhibición de la enzima citocromoxidasa que interviene en el intercambio gaseoso durante la respiración de los animales con circulación de sangre y por inestabilidad del sistema nervioso.

Al ser liposolubles, se introducen y depositan en los tejidos grasos del organismo humano a través de la cadena alimentaria.

Al excretarse por vía biliar pueden ser absorbidos a nivel intestinal, posibilitando una vida biológica mayor y efectos a largo plazo. Pueden ingresar al organismo por INGESTIÓN,

6. Toxicología y Química Legal .Plaguicidas. Universidad Nacional del la Plata-Argentina.

INHALACIÓN o por CONTACTO con la piel.

La absorción de grandes dosis se facilita cuando estos plaguicidas se encuentran disueltos en grasa animal o vegetal.

La penetración dérmica de los plaguicidas órganoclorados varía ampliamente, desde el DDT que es poco absorbido por la piel intacta, aún en solución aceitosa, hasta aquellos como ENDRÍN, ALDRÍN, DIELDRÍN y HEPTACLORO, que penetran con mayor rapidez y proporción.

Los efectos tóxicos de los plaguicidas organoclorados se observan con mayor rapidez después de su ingestión, que por exposición dérmica o inhalación.

### 2.2.3 Pesticidas Carbamatos

El grupo químico de los Carbamatos corresponde a esteres derivados del ácido N-metil - carbámico.

Son de fácil acción sistémica, su persistencia en el ambiente y su toxicidad es intermedia entre los dos anteriores. De acuerdo a su composición, sus derivados pueden tener propiedades insecticidas, fungicidas o herbicidas. Características típicas de la mayoría de estos pesticidas son su alta polaridad y solubilidad en agua, así como su inestabilidad térmica.<sup>4</sup>

A continuación se presenta la tabla 2.6 con ejemplos de nombres de pesticidas Carbamatos más conocidos:

**Tabla 2.6 Nombres comunes y comerciales de Pesticidas Carbamatos**

Nombre Común	Nombre Comercial
Aldicarb	Aldicarb, Temik
Propoxur	Baygon, Under, Okocebo
Benomyl	Benlate
Carbofuran	Curater, Furadan, Carbofuran
Methomyl	Lannate, Nodrin
Methiocarb	Mesurol

4. Toxicología Analítica de los Plaguicidas, J.S. Durand, P. Fernandez, R.M. Garcinuno.

### Aspectos Toxicológicos de los Carbamatos

Ingresan a los mamíferos a través de la piel, conjuntiva, vía respiratoria y vía digestiva. Los carbamatos son activos inhibidores de la acetilcolinesterasa pero esta inhibición es transitoria, de algunas horas solamente. No se ha demostrado aún neurotoxicidad retardada.<sup>4</sup>

#### **2.2.4 Piretroides**

Son compuestos sintéticos que guardan alguna semejanza con las sustancias activas del piretro (ésteres de los ácidos crisantémico y piretroico). Son productos con amplio espectro de acción, sin efecto acaricida.

### Aspectos Toxicológicos de los Piretroides

Actúan sobre el sistema nervioso. Interfieren los procesos hormonales de animales y personas. La mayoría es poco tóxica para el hombre y otros animales de sangre caliente por lo que su uso se ha extendido contra plagas caseras y de salud pública. Ejemplos son la Permetrina, Cipermetrina, Alfacipermetrina, Ciflutrina, Bifentrina, Fenvalerato, etc.

A continuación se presenta la tabla 2.7 con ejemplos de nombres de pesticidas Piretroides más conocidos:

**Tabla 2.7 Nombres comunes y comerciales de Pesticidas Piretroides**

<b>Nombre Común</b>	<b>Nombre Comercial</b>
Fenvalerato	Belmark, Pydrin, Tribute, Agromark, Crisafen
Permetrina	Ambush, Piretrox, Pounce
Decametrina	Decis
Cypermctrina	Cymbush, Ar rivo, Polyt r in, Cypetrin, Nurelle, Serpa 200, Lorsbans Plus
Lambdacialotrina	

4. Toxicología Analítica de los Plaguicidas, J.S. Durand,P.Fernandez,R.M.Garcinuno.

	Karat
--	-------

### 2.3 Uso de los Pesticidas

El uso dado a los pesticidas ha sido múltiple y variado, como se recoge en la tabla 2.5.

La agricultura es la actividad que más emplea este tipo de compuestos, consumiendo el 85% de la producción mundial con el fin de controlar químicamente las diversas plagas que merman la cantidad y calidad de las cosechas de alimentos y de otros vegetales.<sup>5</sup>

**Tabla 2.8 Uso de Pesticidas <sup>5</sup>**

<b>Actividad</b>	<b>Uso</b>
Agricultura	Control de las múltiples plagas que afectan las cosechas en cualquiera de sus etapas.
Salud pública	Control de vectores de enfermedades como malaria, dengue, enfermedad de Chagas, etc. Control de plagas (roedores) y erradicación de plantaciones cuyo producto final sea droga ilícita.
Ganadería y cuidado de animales domésticos	En la desinfección de ganado ovino y de animales domésticos como perros y gatos.
Mantenimiento de áreas verdes	Parques, jardines, áreas de recreo, campos de golf y autopistas, vías férreas, andenes, torres con líneas de alta tensión y postes.
Mantenimiento de reservas de agua	Grandes reservas de agua, naturales o artificiales, presas, embalses, diques, depósitos, estanques piscícolas, canales, albercas y piscinas
Industria	En la fabricación de neveras, equipos eléctricos, pinturas, etc. En la industria de la alimentación, para la preservación de alimentos frescos como carnes, pescados, etc.

Hogar	Lavado y secado de alfombras, en desinfectantes caseros y en productos para el cuidado de mascotas y plantas, además del uso de insecticidas.
-------	---

## 2.4 Análisis de Pesticidas

Previo a la determinación de residuos de pesticidas hay que llevar a cabo una preparación de muestra, que normalmente va incluir una etapa de extracción y purificación con el fin de obtener un extracto final compatible con la cuantificación.

### Muestras Media Ambientales

#### Muestras de Agua

Previo al análisis de pesticidas en agua se requiere un proceso de extracción y concentración, ya que estos van a estar en una proporción traza en relación al resto de componentes. Los métodos usados para conseguir estos son:

- **Extracción Líquido-Líquido**

La extracción líquido-líquido es el procedimiento más generalizado para el tratamiento de las muestras ambientales, en especial en muestras líquidas.

Se basa en la distinta distribución de los componentes de la muestra entre dos disolventes inmiscibles, donde matriz y analito tienen diferente solubilidad en cada uno de ellos.

Cuando se agita un compuesto con dos disolventes inmiscibles, el compuesto se distribuye entre los dos disolventes. A una temperatura determinada, la relación de concentraciones del compuesto en cada disolvente es siempre constante, y esta constante es lo que se denomina *coeficiente de distribución o de reparto* cuya fórmula es la siguiente: <sup>8</sup>

---

5. Plaguicidas: clasificación, uso, toxicología y medición de la exposición, Ramírez, J. A.\* y Lacasaña, M.  
8. Operaciones básicas en el Laboratorio de Química. Tipos de Extracción. Universidad de Barcelona

$$K = \text{concentración en disolvente 2} / \text{concentración en disolvente 1}$$

La eficiencia de la extracción se puede medir por:

- El Coeficiente de Reparto
- La relación volumen entre la fase acuosa y orgánica
- El número de veces que se debe repetir la extracción

Los disolventes orgánicos con baja polaridad como el diclorometano, el éter dietílico, el acetato de etilo, el hexano o el tolueno son los que se suelen utilizar como disolventes orgánicos de extracción.

Para la selección del solvente de extracción se debe tomar en cuenta:

- Grado bajo de toxicidad
- Interferencia 0 sobre los detectores usados
- Coeficiente de reparto alto

La tabla 2.9 presenta a los disolventes de extracción comúnmente utilizados:

**Tabla 2.9 Disolventes de Extracción <sup>8</sup>**

Nombre	Fórmula	Densidad (g/mL)	Punto de ebullición (°C)	Peligrosidad
<b>Disolventes de extracción menos densos que el agua</b>				
Éter dietílico	(CH <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> O	0,7	35	Muy inflamable, tóxico
Hexano	C <sub>6</sub> H <sub>14</sub>	≈ 0,7	> 60	Inflamable
Benceno	C <sub>6</sub> H <sub>6</sub>	0,9	80	Inflamable, tóxico, carcinógeno
Tolueno	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> CH <sub>3</sub>	0,9	111	Inflamable
Acetato de etilo	CH <sub>3</sub> COOCH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	0,9	78	Inflamable, irritante
<b>Disolventes de extracción más densos que el agua</b>				
Diclorometano	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	1,3	41	Tóxico
Cloroformo	CHCl <sub>3</sub>	1,5	61	Tóxico
Tetracloruro de	CCl <sub>4</sub>	1,6	77	Tóxico

8. Operaciones básicas en el Laboratorio de Química. Tipos de Extracción. Universidad de Barcelona



carbono				
---------	--	--	--	--

Entre los problemas que se presenta con la Extracción Líquido-Líquido se cuentan:<sup>9</sup>

- La formación de emulsiones difíciles de romper
  - El uso y desecho de solventes tóxicos e inflamables
  - La necesidad de evaporar grandes cantidades de solventes
  - El aumento del error indeterminado debido al número de etapas en las cuales se presentan pérdidas por transferencias y evaporación.
  - El materia de vidrio y el equipo debe ser sometido a condiciones rigurosas de limpieza y almacenamiento
  - El costo de utilizar solventes puros de grado para análisis de pesticidas
  - El riesgo profesional inherente al manejo de los solventes
- 
- **Extracción en Fase Sólida**

La extracción en fase sólida es un proceso mediante el cual cantidades traza de analito son selectivamente capturadas, separadas y concentradas a partir de volúmenes relativamente grandes de muestras líquidas, gaseosas o extractos.

En esta técnica se hace pasar la muestra a través de un solvente de fase sólida que tiene la capacidad de retener selectivamente los analitos hasta que estén lo suficientemente concentrados antes de que se interrumpa la retención y el analito pase de largo. A continuación se produce la desorción para la consiguiente cuantificación.

El solvente puede estar empacado en una columna o cartucho desechable.

---

9. Análisis de Pesticidas por Cromatografía de Gas. Olga Isabel Trujillo Ramírez. Edición 2006.

La desorción se realiza por elución con un solvente orgánico apropiado el cual se puede evaporar suavemente para mejorar el factor de enriquecimiento de la muestra obteniéndose excelentes resultados.

En las columnas se puede presentar el problema de la formación de canales que permiten el paso de muestra sin retención del analito, también requieren largos tiempos para el procesamiento de grandes volúmenes de muestra.<sup>9</sup>

- **Microextracción en Fase Sólida**

Este método de extracción llamado SPME (solid-phase microextraction), consiste en una primera etapa de adsorción del analito sobre la superficie de una fibra de sílice entrelazada, seguida de una segunda etapa de desorción térmica del analito en el interior de un instrumento de separación y cuantificación, generalmente un cromatógrafo de gases.<sup>9</sup>

La característica primordial es la simplicidad de su técnica. Los contaminantes orgánicos se absorben desde la muestra líquida o gaseosa, en una fase estacionaria sostenida por un soporte de fibra de vidrio.

## **2.5 Cuantificación de Pesticidas**

La cuantificación de Pesticidas se da principalmente mediante la técnica de cromatografía de gases. En general, cromatografía es la técnica que permite separar los componentes de una muestra debido a su diferente afinidad entre dos fases inmiscibles entre sí, una estacionaria (líquida o sólida) y otra móvil (gas o líquida).

### **2.5.1 Cromatografía de Gases**

La cromatografía de gases es una técnica cromatográfica en la que la muestra se volatiliza y se inyecta en la cabeza de una columna cromatográfica. La elución se produce por el flujo

---

9. Análisis de Pesticidas por Cromatografía de Gas. Olga Isabel Trujillo Ramírez. Edición 2006.

de una fase móvil de gas inerte. El gas portador debe ser un gas inerte, para prevenir su reacción con el analito o la columna. Generalmente se emplean gases como el helio, argón, nitrógeno, hidrógeno o dióxido de carbono, y la elección de este gas en ocasiones depende del tipo de detector empleado. El almacenaje del gas puede ser en tanques a presión o empleando un generador, especialmente en el caso del nitrógeno y del hidrógeno.

El gas portador cumple básicamente dos propósitos:<sup>10</sup>

- Transportar los componentes de la muestra, y crear una matriz adecuada para el detector.

Un gas portador debe reunir ciertas condiciones:

- Debe ser inerte para evitar interacciones (tanto con la muestra como con la fase estacionaria)
- Fácilmente disponible y puro
- Económico
- Adecuado al detector a utilizar

A diferencia de los otros tipos de cromatografía, la fase móvil no interacciona con las moléculas del analito; su única función es la de transportar el analito a través de la columna.

### Componentes de un Cromatógrafo de Gases

La cromatografía de gases se lleva a cabo en un cromatógrafo de gases. Éste consta de diversas partes como:

- Sistema de inyección de muestra

El modo estándar es la inyección directa, la muestra es inyectada con una jeringa a través de un septum de goma a un alineador de vidrio donde es vaporizada y transportada por el gas al interior de la columna.<sup>11</sup>

---

10. Analisis Instrumental. Skoog, Douglas A. y Leary, James J. (1994)

Cromatografía de Gases BasicaMcNair, Harold M. & Miller, James M. (1998). Canada: John Wiley & Sons, Inc

11. Cromatografía de Gases y sus Aplicaciones, Beth Alvarado, Octubre 2007.

El bloque de inyección, se mantiene a una temperatura tal que permita convertir prácticamente de forma instantánea la muestra líquida en vapor.<sup>11</sup>

- Sistema de Separación

El modo de separación más extendido en la actualidad se basa en el empleo de columnas capilares. Estas columnas requieren muy pequeños volúmenes de muestra de 1 $\mu$ L-5 $\mu$ L.

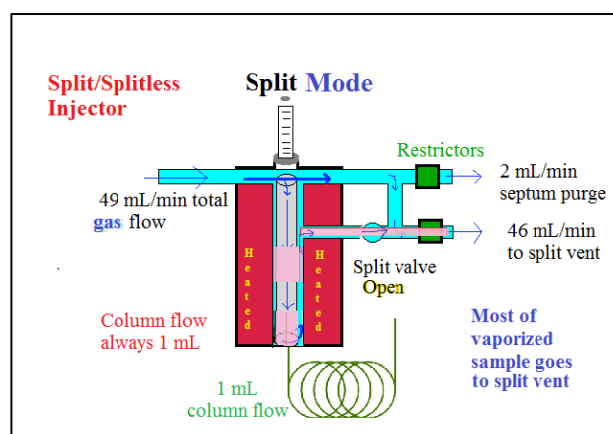
Esto se logra empleando un inyector que incorpora un divisor de flujo (split).<sup>11</sup>

Modo Split:

En modo Split, sólo una cierta cantidad de la muestra inyectada llega a la columna (porque ésta "se divide" antes de entrar; una entra a la columna, otra se expulsa a través de una válvula, split vent). Dado que el sistema de "split-injection" puede provocar discriminación de los componentes de mayor punto de ebullición, no siempre puede ser utilizado con fines cuantitativos. Con Split los picos de los cromatogramas salen más estilizados y normalmente es más limpio. Esto es porque si en la muestra el analito es mayoritario, el resto de componentes (suciedad, interferencias, etc) se ven notablemente reducidos.

En la figura 2.1 se detalla el diagrama Split.

Figura2.1 Modo Split<sup>11</sup>

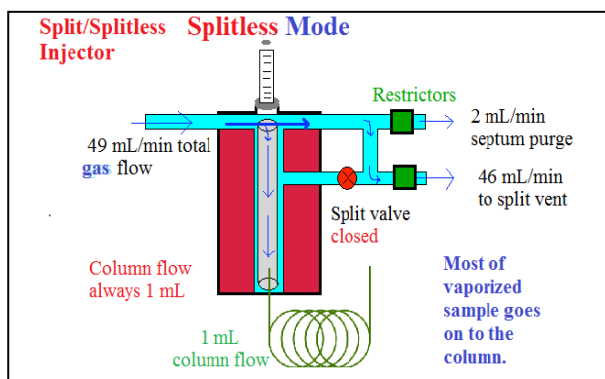


### Modo Split-Less

En el Modo Splitless, la mayoría de muestra inyecta entra a la columna. De hecho, el analito se reconcentra en la cabeza de columna.

Cuando las sustancias a separar se encuentran a muy bajas concentraciones (trazas) o diluídas se realiza inyección sin divisor (splitless). La figura 2.2 detalla un diagrama Splitless.

Figura 2.2. Modo Splitless<sup>11</sup>



### Columnas (generalmente dentro de un horno)

#### Empacadas

Se construyen con tubo de acero inoxidable, níquel o vidrio.

Los diámetros interiores van de 1,6 a 9 mm.

La longitud suele ser inferior a los 3 m.

Se rellenan de un material adsorbente adecuado a las sustancias a separar.

#### Capilares:

Se construyen con sílice fundida.

Los diámetros interiores suelen ser de 200-250  $\mu$ m.

La longitud suele ser superior a los 20 m.

Hay dos tipos de columnas capilares:

11. Cromatografía de Gases y sus Aplicaciones, Beth Alvarado, Octubre 2007.

Empacadas con partículas sólidas ocupando el total del diámetro de la columna (micro-empacadas).

Tubulares abiertas, con trayectoria para el flujo abierta y sin restricción por el centro de la columna.<sup>11</sup>

Se clasifican en:

WCOT (pared recubierta)

SCOT (soporte recubierto)

PLOT (capa porosa)

### Horno

Las columnas cromatográficas se enrollan, se sujetan en un soporte y se introducen en el interior de un horno que debe calentar y enfriar rápidamente.

Esto requiere de un sistema de flujo de aire adecuado y bien diseñado. En la mayoría de los diseños el chorro de aire pasa a través de las resistencias de calentamiento, después por medio de deflectores que conforman la pared interior del horno, pasan por la columna y de vuelta al ventilador para recalentarse y recircular. Los hornos se construyen usualmente con acero inoxidable delgado.

Para la programación de temperatura se debe disponer de un intervalo de velocidades de programación desde 0.1 hasta 50°C/min.

Debe ser posible sostener la temperatura en cualquier momento dentro del programa durante un tiempo.

En general, la resolución óptima se asocia con una menor temperatura; sin embargo, la consecuencia de una reducción de temperatura es un aumento en el tiempo de elución, y por tanto del tiempo que se necesita para completar un análisis.

Las temperaturas iniciales subambientales son útiles cuando se trabaja con columnas capilares.

- Sistema de Detección

Durante el desarrollo de la cromatografía de gases se han investigado y utilizado docenas de detectores. A continuación, se describen los utilizados más frecuentemente.

---

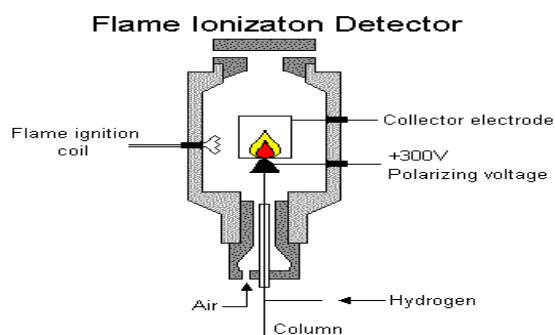
11. Cromatografía de Gases y sus Aplicaciones, Beth Alvarado, Octubre 2007

### Detector de ionización de llama (FID)

Este detector añade hidrógeno al eluyente de la columna.

La mezcla pasa a través del conducto de un mechero, donde se mezcla con aire externo y luego arde.

Este detector es ideal para compuestos oxidables y no responde a los compuestos de carbono totalmente oxidados, como carbonilos o carboxilos y grupos éster.



**Figura 2.3 Detector de Ionización de Llama<sup>11</sup>**

### Detector de Conductividad Térmica (TCD)

Utiliza un filamento caliente colocado en el flujo de gas emergente.

La cantidad de calor por conducción que pierde el filamento hacia las paredes del detector depende de la conductividad térmica de la fase gaseosa.

Es útil para determinar la presencia incluso de pequeñas cantidades de materiales orgánicos que producen una reducción relativamente grande en la conductividad térmica del eluyente de la columna.<sup>11</sup>

### Detector de Captura de Electrones (ECD)

El eluyente pasa entre dos electrodos. Uno de los electrodos tiene en su superficie un radioisótopo que emite electrones de alta energía conforme decae.

---

11. Cromatografía de Gases y sus Aplicaciones, Beth Alvarado, Octubre 2007

Los electrones bombardean el gas portador formándose un plasma que contiene iones positivos, radicales y electrones térmicos.

Se aplica una diferencia de potencial de modo que se recolectan los electrones generados. Los compuestos que absorben electrones reaccionan con los electrones térmicos disminuyendo la corriente del detector, la cual es medida y permite la cuantificación.<sup>11</sup>

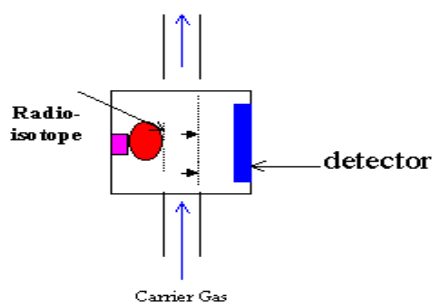


Figura 2.4 Detector de Captura de Electrones <sup>11</sup>

#### Detector Nitrógeno Fosforo (NPD)

El detector de nitrógeno fósforo, también llamado detector de llama alcalina, es un detector de ionización de llama modificado, ya que produce partículas cargadas en una llama alcalina donde los compuestos con Fósforo y Nitrógeno incrementan la corriente de partículas al ser especialmente sensible a ellos (pero que, en general, responde también a hidrocarburos.) En particular, tiene interés en análisis de medicamentos, pesticidas y herbicidas.<sup>11</sup>

La desventaja principal es su relativamente baja estabilidad y la dependencia a la respuesta al flujo del aire en el gas portador.

#### Detector de espectroscopía de masas (MS)

---

11. Cromatografía de Gases y sus Aplicaciones, Beth Alvarado, Octubre 2007



Los eluyentes son ionizados y fragmentados. Los iones resultantes se dirigen a través de un cuadrupolo y se ordenan en función de su masa. Ese detector permite obtener el espectro de masas del compuesto que ha eluido.

Podemos por tanto conocer, además del tiempo de retención el espectro de masas del compuesto y contrastarlo con bibliotecas de espectros.

Se trata por tanto de un detector universal para la mayoría de los compuestos conocidos.<sup>11</sup>

### **2.5.2 Cromatografía Líquida**

Cromatografía líquida, también conocida como Cromatografía de líquidos, es una técnica de separación y no debe confundirse con una técnica cuantitativa o cualitativa de análisis. Es una de las técnicas analíticas ampliamente utilizada, la cual permite separar físicamente los distintos componentes de una solución por la absorción selectiva de los constituyentes de una mezcla.

En toda cromatografía existe un contacto entre dos fases, una fija que suele llamarse fase estacionaria, y una móvil (fase móvil) que fluye permanente durante el análisis, y que en este caso es un líquido o mezcla de varios líquidos. La fase estacionaria por su parte puede ser alúmina, sílice o resinas de intercambio iónico que se encuentran disponibles en el mercado. Los intercambiadores iónicos son matrices sólidas que contienen sitios activos (también llamados grupos ionogénicos) con carga electrostática (positiva o negativa). De esta forma, la muestra queda retenida sobre el soporte sólido por afinidad electrostática. Dependiendo de la relación carga/tamaño unos constituyentes de la mezcla serán retenidos con mayor fuerza sobre el soporte sólido que otros, lo que provocará su separación.

Las sustancias que permanecen más tiempo libres en la fase móvil, avanzan más rápidamente con el flujo de la misma y las que quedan más unidas a la fase estacionaria o retenidas avanzan menos y por tanto tardarán más en salir o fluir. Éste es el principio

---

11. Cromatografía de Gases y sus Aplicaciones, Beth Alvarado, Octubre 2007

fundamental de la cromatografía. Un ejemplo notable es la cromatografía de intercambio iónico. Las columnas más utilizadas son las de sílice.

## 2.6 Aspectos Legales de los Pesticidas

La presencia de pesticidas en el medio ambiente, así como la preocupación de la sociedad ante sus posibles efectos tóxicos sobre la salud, han llevado a los organismos internacionales a establecer unos límites máximos de concentración de pesticidas presentes en el agua y en los alimentos.

La Comunidad Europea, a través, de la directiva 76/464/EEC, estableció una lista de pesticidas prioritarios (recogidos en la tabla 2.10) que deben ser monitorizados en agua de superficie por su alta persistencia y toxicidad.

**Tabla 2.10 Lista de Pesticidas de la Comunidad Europea <sup>4</sup>**

Aldún	Disulfotón	Mevinfos
Atracina	Endosulfán	Monolinurón
Acinfos-etil	Endrin	Ometoato
Acinfos-metil	Fenitrotión	Oxidemetón-metil
Clordano	Fentión	Paratión-etil
Coumafos	Foxim	Paratión-metil
2,4-D	Heptacloro	Propanil
DDT	Hexaclorobenceno	Pirazón
Demetón	Linurón	Simacina
Diclorprop	Malatión	2,4,5-T
Diclorvos	MCPA	Triazofos
Diendrin	Mecoprop	Triclorofón
Dimetoato	Metamidofos	

### Aspectos Legales de los Pesticidas en el Ecuador

En el Ecuador la Constitución en la Sección II referente a un ambiente sano menciona en el artículo 14 el derecho de la población a vivir en un ambiente sano y ecológicamente equilibrado, que garantice la sostenibilidad y el buen vivir, declara de interés público la preservación del ambiente, la conservación de los ecosistemas, la biodiversidad y la integridad del patrimonio genético del país, la prevención del daño ambiental y la recuperación de los espacios naturales degradados.

Por lo tanto es de importante consideración saber los límites máximos permisibles de pesticidas en Ecuador. Según la Norma de Calidad Ambiental y de Descarga de Efluentes: Recurso Agua del Libro VI Anexo 1 del Texto Unificado de Legislación Ambiental Secundaria (TULAS) se presenta en la tabla 2.11 el Nivel permisible de Pesticidas en Agua de Consumo Humano y Domestico:

**Tabla 2.11 Limite Máximo Permissible en Agua de Consumo Humano y Domestica**

<b>Parámetro</b>	<b>Expresado Como</b>	<b>Unidad</b>	<b>Límite Máximo Permissible</b>
Xilenos (totales)		µg/l	10 000
<b>Pesticidas y herbicidas</b>			
Carbamatos totales	Concentración de carbamatos totales	mg/l	0,1
Organoclorados totales	Concentración de organoclorados totales	mg/l	0,01
Organofosforados totales	Concentración de organofosforados	mg/l	0,1

<b>Parámetro</b>	<b>Expresado Como</b>	<b>Unidad</b>	<b>Límite Máximo Permisible</b>
	totales		
Dibromocloropropano (DBCP)	Concentración total de DBCP	µg/l	0,2
Dibromoetileno (DBE)	Concentración total de DBE	µg/l	0,05
Dicloropropano (1,2)	Concentración total de dicloropropano	µg/l	5
Diquat		µg/l	70
Glifosato		µg/l	200
Toxafeno		µg/l	5

## 2.7 Validación y Análisis Estadístico

La validación de un método es un requisito importante en la práctica de los análisis químicos.

Validación es la confirmación mediante el suministro de evidencia objetiva de que se han cumplido los requisitos para una utilización o aplicación específica prevista.

### Importancia de Validar un Método

- Cuando la medición analítica es importante (costo, salud, remediación, legal, etc.)

Virtualmente, cualquier aspecto de la sociedad se respalda de algún modo por una medición analítica.

Es importante determinar el resultado correcto y ser capaz de demostrar que es correcto.

- Por la obligación profesional del analista.

El cliente espera **confiar** en los resultados informados y generalmente los cuestiona cuando aparece algún conflicto (aquí el analista debe demostrar que ha informado la respuesta correcta para la parte analítica del problema del cliente →la validación del método permite demostrar que el método “is fit for purpose”).

- Por la confianza con que el cliente necesita **tomar decisiones** en base a los resultados analíticos , aquí se debe validar la aptitud del método y estimar la incertidumbre del resultado de un modo que sea ampliamente reconocido, internamente consistente y fácil de interpretar. (Mucha de la información requerida para evaluar la incertidumbre se puede obtener durante la validación del método).
- La **toma de muestras**: si el laboratorio no puede tomar la muestra o no tiene influencia sobre ello, los resultados deben informarse sobre la base de las muestras como fueron recibidas y destacar este hecho en el informe

### **Necesidad de validar un Método**

Cuando se necesita verificar que sus parámetros de aptitud son adecuados para usar para un problema analítico particular. Ejemplos:

- Cuando se desarrolla un método nuevo.
- Cuando se revisa un método ya establecido para mejorar o extender a un nuevo problema
- Cuando el control de calidad indica que el método en uso está cambiando con el tiempo
- Cuando se usa un método ya establecido en un laboratorio diferente o con diferente analista o con diferente instrumental
- Para demostrar la equivalencia entre 2 métodos, por ej. Un método nuevo y una norma.<sup>12</sup>

---

12. Validación de Métodos Analíticos. The Fitness for Purpose of Analytical Methods. A laboratory guide to method validation and related topics. Eurachem Guide, 1998 y OAA.DC-LE-05

### Parámetros de Validación

Según el Procedimiento para la Validación de Métodos Analíticos (PGI-LMA-07) del Laboratorio de Medio Ambiente para demostrar que un método es adecuado para la aplicación que se pretende es preciso determinar mediante estudios de laboratorio sus características de funcionamiento (parámetros), que pueden incluir:

- Selectividad/especificidad
- Precisión (repetibilidad, reproducibilidad)
- Linealidad/ función respuesta
- Límite de detección
- Límite de cuantificación
- Intervalo de trabajo/ rango
- Incertidumbre
- Porcentaje de Recuperación

Los parámetros que es preciso determinar difieren según el alcance del método de ensayo a validar. Los tipos de ensayo a considerar serán los siguientes:

- a) Métodos de identificación
- b) Determinación cuantitativa de un componente
- c) Determinación cualitativa de un componente

En la tabla siguiente se definen los parámetros a considerar para cada tipo de ensayo:

**Tabla 2.12 Parámetros para tipos de ensayo**

<b>TIPO DE ENSAYO</b>	<b>PARÁMETRO</b>
Identificación	Selectividad / Especificidad
Determinación cualitativa	Selectividad / Especificidad Límite de detección
Determinación cuantitativa de un componente	Intervalo de trabajo Linealidad / Función respuesta Selectividad / Especificidad Precisión Exactitud Límite de cuantificación Incertidumbre

### **Selectividad / especificidad**

Normalmente, salvo en el caso de que estemos validando un método completamente desarrollado de nuevo por el laboratorio, este parámetro de validación se resuelve bibliográficamente, ya que los métodos seleccionados, de reconocida aplicación, cuentan con información sobre su selectividad y especificidad y las interferencias que se conocen.

Para poder asegurar la selectividad y especificidad de un método, cuando se conoce la existencia de interferencias, por experiencia previa o por información bibliográfica, habrá que diseñar un estudio experimental del efecto de las mencionadas interferencias, mediante la adición de cantidades conocidas de componente interferente.

Los efectos matriz que puedan existir se estudian en la función de respuesta.

### **Precisión**

La precisión de reproducibilidad que mide la siguiente  $s_R$  es la **del método en el laboratorio** (es por tanto una medida de precisión intermedia según el esquema de la norma ISO 5725, que define la  $s_R$  como desviación estándar de reproducibilidad del método en el “mercado”, incluyendo la variabilidad que proviene de los distintos laboratorios de un ensayo interlaboratorios adecuado).

El estudio de la precisión se puede realizar calculando, a través del análisis simple de varianza (ANOVA de dos factores totalmente anidados homogéneos), las desviaciones estándar de repetibilidad ( $s_r$ ) y de reproducibilidad ( $s_R$ ) para cada uno de los niveles de ensayo.

Las medias de cada día están definidas por:

$$\bar{L}_i = \frac{\sum_{j=1}^3 L_{ij}}{3} \quad (1)$$

La media general es:

$$\bar{L} = \frac{\sum_{i=1}^3 \sum_{j=1}^3 L_{ij}}{9} = \frac{\sum_{i=1}^3 3\bar{L}_i}{9} = \frac{\sum_{i=1}^3 \bar{L}_i}{3} \quad (2)$$

Para el análisis ANOVA los parámetros a calcularse serán los siguientes:

Tabla2.13 Análisis Simple de Varianza

Análisis simple de la varianza			
Origen de la varianza	Grados de libertad ( $\nu$ )	Sumas de diferencias cuadráticas (SDC)	Diferencias cuadráticas medias (DCM = SDC/ $\nu$ ) (varianzas)
Entre grupos (Between)	$\nu_1 = n-1$	$SDC_B = \sum_{i=1}^n n(\bar{L}_i - \bar{L})^2$ (3)	$DCM_B = \frac{SDC_B}{n-1}$ (4)
Dentro del grupo (Within)	$\nu_2 = n^2 - n$	$SDC_W = \sum_{i=1}^n \sum_{j=1}^n (L_{ij} - \bar{L}_i)^2$ (5)	$DCM_W = \frac{SDC_W}{n^2 - n}$ (6)
Total	$\nu = n^2 - 1$	$SDC_T = \sum_{i=1}^n \sum_{j=1}^n (L_{ij} - \bar{L})^2$ (= $SDC_B + SDC_W$ ) (7)	$DCM_T = \frac{SDC_T}{n^2 - 1}$ (8)

De acuerdo a ISO 5725 (UNE 82009):

La desviación estándar de repetibilidad ( $s_r$ ) es  $s_r = \sqrt{DCM_W}$  (9)

La desviación estándar de reproducibilidad ( $s_R$ ) es  $s_R = \sqrt{s_r^2 + s_L^2}$  (10)

Donde  $s_L^2 = \frac{DCM_B - DCM_W}{n}$ , (11)



Siendo el denominador ( $n$ ) igual al número de observaciones que se realizan cada día (en cada nivel)

Las  $s_r$  y  $s_R$  del método estarán comprendidos entre el valor menor y el valor mayor de todas las desviaciones típicas calculadas (todos los niveles).

### **Coeficiente de Variación**

Es la magnitud que caracteriza la dispersión de una serie de  $n$  mediciones de un mismo mesurando, expresada como medida relativa a la media aritmética de los  $n$  resultados considerados. Para el cálculo de los coeficientes de variación de la Repetibilidad y reproducibilidad, se usa las siguientes formulas:

$$cvr(\%) = \frac{S_r}{\min \bar{x}_{PROMEDIO}} * 100$$

(11)

$$CVR(\%) = \frac{S_R}{\bar{x}_{PROMEDIOS}} * 100$$

(12)

### **Linealidad**

Es la relación entre la concentración de analito y la respuesta del método. Esta relación, denominada comúnmente curva patrón o curva de calibración, no tiene por qué ser lineal para que el método sea eficaz. Cuando no sea posible la linealidad para un método, se deberá encontrar un algoritmo adecuado.

Si los datos se ajustan a una recta (respuesta lineal), la ecuación de la función será del tipo:

$$L = mX + b$$

(13)

### **Pendiente de la recta (m):**

La pendiente ( $m$ ) se llama también coeficiente de regresión: a mayor pendiente, mayor

sensibilidad.

Para el cálculo de la pendiente (m) se utilizó la siguiente fórmula:

$$byx(m) = \frac{n \sum xy - \sum x \sum y}{n \sum x^2 - (\sum xi)^2} \quad (14)$$

La desviación estándar o error estándar de la pendiente  $S_m$  se utiliza también como expresión de la linealidad, a menor desviación estándar mejor linealidad. Se determina según:

$$S_m = \frac{S_{yx}}{\sqrt{\sum (x - xm)^2}} \quad (15)$$

#### **Término Independiente (b):**

El valor de b, intercepción con el eje de ordenadas u ordenada en el origen, indica el error sistemático del método. En el caso ideal debe ser cero.

Se determina según:

$$a_{yx} = \frac{\sum y - byx \sum x}{n} \quad (16)$$

La desviación o error estándar del término independiente es:

$$S_b = S_m \sqrt{\frac{\sum x^2}{N}} \quad (17)$$

#### **Error estándar de Estimación**

Está dado por:

$$S_{yx} = \sqrt{\frac{\sum (y - YEST)^2}{n - 2}} \quad (18)$$

Donde YEST se refiere a la respuesta obtenida de sustituir valores en la ecuación (13) para tener:

$$yEST = mX + b \quad (19)$$

### Desviación de patrones(x) con respecto a los datos (y)

Está dado por:

$$S_{xy} = \sqrt{\frac{\sum (x - xEST)^2}{N - 2}} \quad (20)$$

Donde xEST se refiere a la respuesta obtenida de despejar el valor de X de la ecuación (13) para tener:

$$xEST = (y - b) / m \quad (21)$$

### Coefficiente de Correlación (r)

El coeficiente de correlación refleja el grado de relación entre las variables x. Su valor máximo es 1.

Si r es cercano a la unidad, significa que existe correlación con una probabilidad elevada.

Fórmula para hallar r:

$$r = \frac{n \sum xy - (\sum x)(\sum y)}{\sqrt{(n \sum x^2 - (\sum x)^2)(n \sum y^2 - (\sum y)^2)}} \quad (22)$$

En análisis químico se obtienen valores de  $r$  elevados, iguales o superiores a 0.999, si bien en análisis de trazas se aceptan valores más bajos.

### **Limite de Detección**

Es la menor concentración de analito en una muestra que puede ser detectada siguiendo el proceso completo del método con un nivel aceptable de confianza de que dicha concentración es mayor que el blanco.

El límite de detección (**LD**) se calcula a partir de los resultados obtenidos del blanco, según la ecuación:

$$LoD = B + 3 * Sb$$

(23)

**LoD**= Límite de detección

**B** = Media General de los Blancos

**Sb**= Desviación típica

### **Limite de Cuantificación**

Concentración mínima de analito que puede determinarse con un nivel aceptable de exactitud y precisión.

Normalmente corresponde al punto inferior de la curva de calibración (excluido el blanco). No debe determinarse por extrapolación. Se calcula según la siguiente fórmula:

$$LoC = B + 10 * Sb$$

(24)

**LoC**= Límite de cuantificación

**B** = Media General de los Blancos

***S<sub>b</sub>*** = Desviación típica

### **Intervalo de Trabajo**

Está relacionado con el intervalo de concentraciones para la cual el método se calibra. La más baja concentración puede coincidir con el límite de cuantificación, es el intervalo de concentración en el que puede obtenerse una exactitud y precisión adecuadas al objetivo del método.

### **Incertidumbre**

Estimación que caracteriza el intervalo de valores en el que se sitúa, generalmente con una alta probabilidad dada, el valor verdadero de la magnitud medida.

La incertidumbre de medida incluye, en general, varias componentes. Algunas pueden estimarse a partir de la distribución estadística de los resultados de series de medición, y pueden caracterizarse por la desviación típica muestral. Las estimaciones de las otras componentes solamente pueden basarse en la experiencia o en otras informaciones.

Para cuantificar las fuentes de incertidumbre se distinguen dos métodos:

#### **Método de Evaluación Tipo A**

Basado en un análisis estadístico de una serie de mediciones (utilizando la desviación estándar) obtenidas en el curso de la actual medición.

#### **Método de Evaluación Tipo B**

Las fuentes de incertidumbre tipo B son cuantificadas usando información externa u obtenida por experiencia. Estas fuentes de información pueden ser:

- Certificados de Calibración
- Manuales del Instrumento de Medición/Especificaciones del Instrumento
- Normas o Literatura

- Valores de mediciones anteriores
- Conocimiento sobre las características o el comportamiento del sistema de medición.

### **Distribuciones de Probabilidad**

La cuantificación de una fuente de incertidumbre incluye la asignación de un valor y la determinación de la distribución a la cual se refiere este valor. Las distribuciones que aparecen más frecuentemente son:

#### Distribución Normal

Los resultados de una medición repetida afectada por una o más magnitudes de influencia que varían aleatoriamente, generalmente siguen en buena aproximación una distribución normal. También la incertidumbre indicada en certificados de calibración se refiere generalmente a una distribución normal.

#### Distribución Rectangular

En una distribución rectangular cada valor en un intervalo dado tiene la misma probabilidad, o sea la función de densidad de probabilidad es constante en este intervalo.

Ejemplos típicos son la resolución de un instrumento digital o la información técnica de la tolerancia de un instrumento.

En general, cuando exclusivamente hay conocimiento de los límites superior e inferior del intervalo de la variabilidad de la magnitud de entrada, lo más conservador es suponer una distribución rectangular.

#### Distribución Triangular

Si además del conocimiento del límite superior e inferior hay evidencia de que la probabilidad es más alta para valores en el centro del intervalo y se reduce hacia los límites, puede ser más adecuado basar la estimación de la incertidumbre en una distribución triangular.

Otras Distribuciones

Pueden también encontrarse distribuciones como la U, en los cuales los extremos del intervalo presentan los valores con probabilidad máxima, típicamente cuando hay comportamientos oscilatorios subyacentes. También se encuentran distribuciones triangulares con el valor máximo en un extremo como en las asociadas al error de coseno.<sup>13</sup>

Para el cálculo de la incertidumbre de las soluciones estándar se empleó las siguientes ecuaciones:

$$\begin{aligned} C_1 \times V_1 &= C_2 \times V_2 \\ C_2 &= \frac{C_1 \times V_1}{V_2} \end{aligned} \quad (25)$$

$$\mu C_2 = C_2 \times \sqrt{\left(\frac{\mu C_1}{C_1}\right)^2 + \left(\frac{\mu V_1}{V_1}\right)^2 + \left(\frac{\mu V_2}{V_2}\right)^2} \quad (26)$$

Donde:

$C_1$  = concentraciones promedio

$C_2$  = concentración del estándar de calibración

$\mu C_1$  = Incertidumbre de  $C_1$

$\mu C_2$  = Incertidumbre de  $C_2$

$V_1$  = volumen de aforo de las muestras

$\mu V_1$  = Incertidumbre de  $V_1$

$V_2$  = volumen tomado de la solución estándar

$\mu V_2$  = Incertidumbre del  $V_1$

---

13. Guía para estimar la Incertidumbre de la Medición. Wolfgang A. Schmid y Ruben J. Lazos Martínez

### **Incertidumbre Expandida**

La incertidumbre expandida de la medición ( $U_{exp}$ ), representa la mitad del intervalo de incertidumbre de la medición. El resultado debe ser reportado junto con la incertidumbre de la medición, utilizando un factor de cobertura 1,96 o bien su aproximación a 2, el cual da un nivel de confianza de 95%. Se recomienda el formato siguiente:

(27)

$$\mu_{exp} = \mu * 1,96$$

### **Exactitud- Porcentaje de Recuperación**

Es el grado de concordancia entre el resultado de una medición y el valor de referencia aceptado.

Procedimiento que establece el sesgo (o desviación del valor real) de un método de ensayo (lo que nos permite corregir los resultados obtenidos o modificar el método con el fin de mejorar el sesgo).

Se calcula de la siguiente forma:

(28)

$$\% \text{ de recuperación} = (\text{valor obtenido} / \text{valor teórico}) \times 100$$

Otras definiciones importantes son:

### **Media Aritmética**

La media aritmética de una muestra es el promedio de los datos, se calcula así;



$$\bar{X} = \frac{\sum_{i=1}^n X_i}{n} \quad (29)$$

Donde:

X=Observaciones

N= Numero de Observaciones

### **Varianza**

Es el promedio de los cuadrados de las distancias de los datos a su media aritmética. Se denota como  $S^2$  dividiendo entre  $n-1$ .

$$s^2 = \frac{\sum_{i=1}^N (X_i - x)^2}{n - 1} \quad (30)$$

### **Desviación Estándar**

Mide la variación de los datos en términos absolutos. Se interpreta como la distancia promedio de los datos a su media aritmética.

Se expresa en las mismas unidades que las empleadas en los datos. Se calcula tomando la raíz cuadrada positiva de la varianza.

$$S = \sqrt{S^2} \quad (31)$$

### **Distribución t de Student.**

Tiene gran aplicación al tratar los resultados de mediciones que obedecen a la distribución normal. Su mayor éxito radica en que puede aplicarse a muestras pequeñas. Nos permitirá determinar si existe diferencia significativa entre las medias.

### **Límites de confianza ( $\alpha = 0,05$ ).**

Determina el rango en el cual el resultado verdadero estará en el 95% de los casos.

### **Incertidumbre en la preparación de la solución Estándar**

La incertidumbre de soluciones estándar que contribuyen al cálculo de la incertidumbre es la siguiente:

$$\mu_c = \mu C^2 \quad (32)$$

### **Incertidumbre Estándar**

Se calcula de la siguiente manera:

$$\mu_e = \sqrt{(\mu_c)^2 + (\mu_{\text{exactitud-equipo}})^2 + (\mu_{SR})^2 + (\mu_{\text{Resolución}})^2} \quad (33)$$

Donde;

$\mu_c$  = Incertidumbre en la preparación de soluciones estándar

$\mu_{\text{exactitud equipo}}$  = Incertidumbre en la Exactitud del Equipo

$\mu_{SR}$  = Incertidumbre en la Desviación estándar de reproducibilidad

$\mu_{\text{Resolución}}$  = Incertidumbre en la Resolución del Equipo cuyo valor es 0,001uv/s, para el cálculo transformar a ppm mediante ecuaciones de calibración.

### **Incertidumbre total expandida absoluta**

Se calcula aplicando la siguiente fórmula:

$$\mu_{\text{expABS}} = (K * u_e) \quad (34)$$

Donde:

K = Grados de libertad; 2

$u_e$ = Incertidumbre estándar

### **Incertidumbre total expandida relativa**

Se calcula de la siguiente manera:

$$\boxed{\%u_{expREL} = (\mu_{expABS} * 100) / \text{nivel de concentración}} \quad (35)$$

### **Exactitud del Equipo**

Se utilizara la siguiente fórmula:

$$\frac{(media - certificado) + t_{n-1} Sd / \sqrt{n}}{media} \quad (36)$$

### **Concentración de la Muestra**

Para la determinación de la concentración(C) individual de cada compuesto en la muestra aplicar la siguiente fórmula:

$$\boxed{C = \frac{A}{1000}} \quad (37)$$

A= Concentración en equipo después de aplicar las ec. de calibración, (ppm)

## CAPITULO III

### MÉTODOS Y PROCEDIMINETOS

La metodología está basada en el Método 614.1 de la Agencia de Protección del Medio Ambiente de Los Estados Unidos (EPA). (Anexo I)

#### 3.1. EQUIPOS

- Cromatógrafo de Gases marca Perkin Elmer Modelo Clarus 500 que incluye:
  - Touch Screen
  - Control Neumático de Presión (PPC)
  - Automuestreador
  - Inyector de columnas Capilares con control electrónico de presión Split/Splitless.
  - Sistema de Detección de Nitrógeno Fosforo NPD
  - Software Total Chrom Navigator



**Figura 3.1 Cromatógrafo de Gases Perkin Elmer Clarus 500**

- Balanza Analítica de apreciación 0,1 mg



**Figura 3.2 Balanza Analítica**

- Estufa con control de temperatura



**Figura 3.3 Estufa**

- Tanque de Gas Helio y manómetro
- Tanque de Gas Aire y manómetro
- Tanque de Gas Nitrógeno y manómetro
- Generador Hidrógeno, marca Perkin Elmer
- Rotavapor

### **3.2. MATERIALES**

- Pipetas Automáticas de volumen variable de 100 $\mu$ l a 1ml
- Matraces Aforados de 50, 100,250 ml, marca Glassco

- Balones de 10,25,50 ml con sus respectivas tapas, marca Glassco
- Vasos de Precipitación de 50,100 y 250 ml , marca Glassco
- Papel Filtro cualitativo 125mm de diámetro, marca Whatman
- Embudo de Vidrio de 60°
- Botella Ambar de 1L con tapa rosca
- Viales para cromatografía color Ambar y Blancos de 2ml , marca Perkin Elmer
- Probetas de vidrio de 10 y 25 ml marca Glassco

### 3.3 REACTIVOS, ESTANDARES Y DISOLUCIONES

#### 3.3.1 Reactivos

- Hexano grado pesticida ( $C_6H_{14}$ ) al 99.9% de pureza ,marca Merck
- Diclorometano grado pesticida( $CH_2Cl_2$ ) al 99.9% de pureza, marca Fisher Scientific
- Sulfato de Sodio Granular y Anhidro( $Na_2SO_4$ ) grado analítico, marca Merck

#### 3.3.2 Estándares

Estándar RESTEK Mix de Pesticidas Fosforados que contiene los siguientes pesticidas:

**Tabla 3.1 Pesticidas Órganofosforados. Concentración e Incertidumbre**

COMPUESTO	CONCENTRACION( $\mu\text{g/ml}$ )	% Incertidumbre (95%) C.L. ; K=2
Dichlorvos(DDVP)	501.760	+/- 0.67%
Mevinphos(phosdrin)	500.00	+/- 0.67%
Ethoprophos	499.800	+/- 0.67%
Methylparaoxon(Parathion)	502.00	+/- 0.67%
Chlorpyrifos(Dursban)	500.00	+/- 0.67%
Stirofos(tetrachlorvinphos)	504.960	+/- 0.67%
Disulfoton Sulfon	502.00	+/- 0.67%

#### 3.3.3 Disoluciones

Las disoluciones fueron realizadas con la utilización de una micropipeta (rango 10 a 1000  $\mu\text{l}$ ) en unidades de volumen etiquetados previamente y almacenadas en refrigeración a 4°C.

- Soluciones para Calibración del Equipo

Se realizaron 4 soluciones para la calibración, 14ppm; 10ppm; 1ppm y 0,6 ppm aforadas en un vial color ámbar a 1ml con una mezcla hexano-diclorometano en relación 1:1.

Solución de Estándar Mix de Pesticidas Fosforados de 500ppm a 20ppm

Tomar 0.4 mL del Estándar de 500 ppm y aforar en un balón de 10 mL con una mezcla de hexano-diclorometano en relación 1:1.

Solución de 20 ppm a **14 ppm**

Tomar 0,7mL. de la solución del 20 ppm y aforar en un vial de color ámbar a 1 mL. Con una mezcla hexano-diclorometano en relación 1:1.

Solución del Estándar Mix de Pesticidas Fosforados de 500ppm a 10ppm.

Tomar 0.5 mL. del estándar de 500 ppm y aforar en un balón de 25 mL. con una mezcla de hexano-diclorometano en relación 1:1.

Solución de 10 ppm a **10 ppm**

De la solución de 10 ppm se tomo 1 mL. para colocar en un vial de color ámbar.

Solución de 10 ppm a **1 ppm**

Tomar 0,1 mL. de la solución de 10 ppm y aforar en un vial de color ámbar a 1 mL. Con una mezcla hexano-diclorometano en relación 1:1.

Solución de la solución 10 ppm a 1 ppm

Tomar 1 mL. de la solución de 10 ppm y aforar en un balón de 10 mL. con una mezcla hexano-diclorometano en relación 1:1.

Solución de la 1 ppm a **0,6 ppm**

Tomar 0.6 mL. de la solución de 1 ppm y aforar en un vial de color ámbar a 1 mL. con una mezcla hexano-diclorometano en relación 1:1.

- Soluciones Fortificadas para Validación del Método

Se realizaron 3 soluciones para la validación del método 0,001ppm; 0,01ppm; 0,014ppm colocadas en las muestras de agua de 1L para así ejecutar el protocolo de análisis.

#### **Solución de 0.001ppm**

De la solución de 10ppm tomar 0,1 ml para posteriormente colocarla en la muestra de agua de 1L y así tener en ella 0,001ppm de pesticidas fosforados y realizar el protocolo de análisis.

#### **Solución de 0.010ppm**

De la solución de 10ppm tomar 1ml para luego añadir a la muestra de agua de 1L y así tener en ella 0,01ppm de pesticidas fosforados y realizar el protocolo de análisis.

#### **Solución de 0.014ppm**

De la solución de 20ppm tomar 0,7ml para colocar a la muestra de agua de 1L y así tener en ella 0,014ppm de pesticidas fosforados y realizar el protocolo de análisis.

### **3.3.4 Preparación de la muestra de agua fortificada**

- Si se toma:

0,7mL de la solución de 20mg / L tenemos:

$$20 \frac{mg}{L} * 0,0007L = 0,014mg$$

Se afora a 1L y se tiene:

$$0,014mg / L$$



Concentrado la muestra a 1mL se tiene:

$$\frac{0,014mg * 1000ml}{1ml * 1L} = 14 ppm$$

La tabla 3.2 muestra la concentración de la muestra de agua fortificada y concentrada a 1mL:

**Tabla 3.2 Concentración de Muestra de Agua Fortificada y Concentrada**

<b>Volumen tomado del Estándar(mL )</b>	<b>Aforada al 1L(mg/L)</b>	<b>Concentración de la Muestra de agua fortificada y concentrada a 1mL (ppm)</b>
0,1 del estándar de 10ppm	0,001	1,000
1 del estándar de 10ppm	0,01	10,000
0,7 del estándar de 20ppm	0,014	14,000

### **3.4 PROTOCOLO DE ANALISIS**

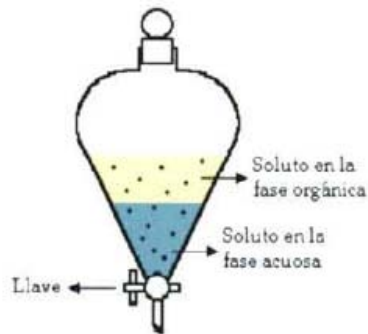
En el procedimiento analítico para la determinación de pesticidas organofosforados en agua se diferencian las siguientes etapas:

#### **3.4.1 Recolección de la Muestra**

La muestra de agua se recolecta en una botella ámbar de 1 Litro completamente llena y previamente esterilizada con Diclorometano (15%v/v) en hexano, sellar con papel aluminio y tapa rosca y codificar adecuadamente.

#### **3.4.2 Proceso de Extracción**

Para la extracción de los plaguicidas de la matriz acuosa se utilizo la Extracción Líquido-Líquido (LLE), cada muestra fue fortificada con el estándar de pesticidas fosforados en tres diferentes concentraciones.



**Figura 3.4 Extracción Líquido-Líquido**

### **3.4.3 Proceso de Purificación o Clean-up**

El procedimiento de purificación o Clean-Up no es necesario para una muestra relativamente limpia. Se sugiere en el caso de presencia de alguna impureza pasar por Sulfato de Sodio Anhidro.



**Figura 3.5 Purificación o Clean-up**

### **3.4.4 Proceso de Concentrado y Almacenamiento**

El extracto se concentra hasta 1 ml mediante el rotavapor entre 40-60 °C se coloca en un vial ámbar para cromatografía y se realiza la cuantificación mediante cromatografía con un volumen de inyección de 1  $\mu$ l.

La muestra final obtenida para el posterior análisis cromatográfico podrá ser almacenada en refrigeración a 4°C por 7 días. Luego de este periodo la muestra requiere ser re-homogeneizada para el análisis.

### 3.4.5 Cuantificación mediante Cromatografía Gaseosa

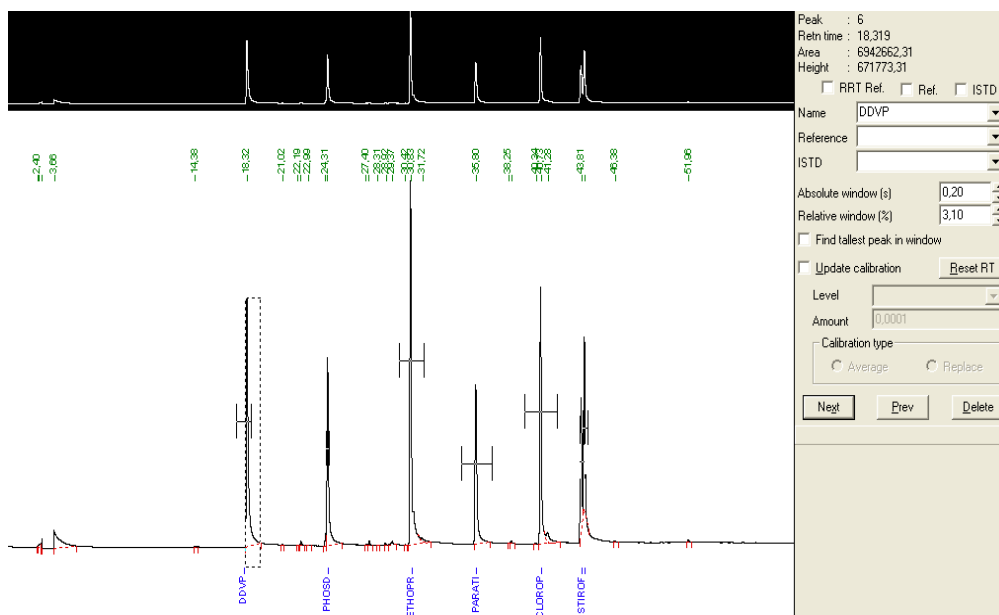
Los pesticidas fosforados serán cuantificados mediante cromatografía gaseosa con detector Nitrógeno Fosforo NPD.

Las condiciones instrumentales para la cuantificación de pesticidas fosforados en las muestras de agua se recogen en la siguiente tabla:

**Tabla 3.3 Condiciones Cromatográficas para Pesticidas Fosforados**

<b>Detector:</b>	Nitrógeno/Fosforo NPD 260°C		
<b>Inyector:</b>	Automático de líquidos. Split a 250°C		
<b>Presión de Gases:</b>	50 psi entrada		
<b>Columna:</b>	Capilar N9316023 Crossband 100% Dimethyl Polysiloxano Phase: Elite 1 Dimensiones: Longitud: 30 m. Diámetro Interno: 0,32mm Rango de Temperatura: -60 a 330/350°C		
<b>Rampa del Horno:</b>	<b>RATE</b>	<b>TEMPERATURE(C°)</b>	<b>HOLD</b>
<b>Inicial</b>	0,00	50	0,00
<b>1</b>	4,00	250	10,00
<b>2</b>	0,00	0,00	0,00
<b>3</b>	0,00	0,00	0,00

Los pesticidas órganofosforados son identificados en un cromatograma que presenta a cada uno de ellos con sus respectivos nombres, tiempo de retención, área y altura.



**Figura 3.6 Cromatograma de Pesticidas Organofosforados**

NOTA: El completo desarrollo de este análisis se encuentra descrito en el Procedimiento Técnico Interno (PTI-001) del laboratorio de Medio Ambiente de la Carrera de Ingeniería Geográfica y del Medio Ambiente de la Escuela Politécnica del Ejército.

El uso y manejo del equipo se describen en el instructivo correspondiente (Instructivo de Uso y Manejo de Equipo Cromatógrafo de Gases).

### 3.4.7 Validación del Método Analítico

Para la Validación se requiere de los siguientes ítems:

- Preparación de soluciones fortificadas para Validación del Método (ítem 3.3.3)
- Preparación de Extractos para las tres soluciones y un blanco.(ítems 3.4.1 a 3.4.4).
- Cuantificación (ítem 3.4.5). Se realizara mediciones de las soluciones en 3 días diferentes con inyección de 1 µL cada uno.
- Determinación y Cálculo de Parámetros estadísticos para la validación del método

- Linealidad/ función respuesta. Se acepta  $r = 0,882$  mediante una regresión lineal
- Precisión (Repetibilidad, reproducibilidad). Se realiza 3 repeticiones en 3 días diferentes.
- Límite de detección. Se realiza mediante el uso de los blancos de la mediciones
- Límite de cuantificación. Se realiza mediante el uso de los blancos de la mediciones
- Intervalo de trabajo/ rango. Se determina mediante el límite de cuantificación como valor inferior.
- Incertidumbre. Se calcula incertidumbre del método y las soluciones.
- Porcentaje de Recuperación. Se aceptan valores entre 90%-101% (EPA 614.1)

## CAPITULO IV

### DATOS EXPERIMENTALES

#### 4.1 Valores de área de las soluciones fortificadas

**Tabla 4.1 Valores de Áreas de la soluciones fortifiadas del Dichlorvos (DDVP)**

<b>Dichlorvos (DDVP)</b>	<b>AREA (<math>\mu\text{v/s}</math>)</b>								
<b>CONCENTRACION (ppm)</b>	<b>DIA 1</b>			<b>DIA 2</b>			<b>DIA 3</b>		
1,014	829483,450	773366,980	777323,830	671628,420	673514,730	655107,050	606348,920	607241,230	631792,960
10,141	6076589,190	5903239,280	5588757,710	5869113,410	5606981,600	5110397,410	4994531,320	5048221,530	4912765,790
14,198	17742545,110	17425280,510	17290313,960	16341792,580	16639740,440	16852616,990	17130051,060	17426128,350	17341709,690

**Tabla 4.2 Valores de Área de la soluciones fortificadas del Mevinphos(phosdrin)**

<b>Mevinphos (phosdrin)</b>	<b>AREA (<math>\mu\text{v/s}</math>)</b>								
<b>CONCENTRACION (ppm)</b>	<b>DIA 1</b>			<b>DIA 2</b>			<b>DIA 3</b>		
1,00	337887,070	347596,420	331204,590	290219,010	283295,490	286690,180	310488,440	310082,860	295416,750
10,00	3137896,480	3058993,640	3074190,540	3149373,490	3015001,230	2835071,350	2740063,270	2741000,310	2710485,890
14,00	9669515,020	9729419,290	9589951,120	9428141,720	9604946,630	9853886,900	10490576,070	10488274,300	10420906,760

## 4.3 Valores de Área de la soluciones fortificadas del Ethoprophos

<b>Ethoprophos</b>	<b>AREA (<math>\mu\text{v/s}</math>)</b>								
<b>CONCENTRACION (ppm)</b>	<b>DIA 1</b>			<b>DIA 2</b>			<b>DIA 3</b>		
0,998	962668,830	954532,540	1031457,890	835899,370	835338,930	848663,180	796877,480	958551,960	825465,540
9,984	7382642,460	7222945,670	7173655,980	7066635,900	6625366,960	6306881,740	5941957,030	5927020,480	5844833,380
13,977	15797832,580	15546536,270	15552550,500	14986373,690	15271740,320	15514628,480	15726081,620	16027073,630	16051782,120

## 4.4 Valores de Área de la soluciones fortificadas del Methylparaoxon(Parathion)

<b>Methylparaoxon (Parathion)</b>	<b>AREA (<math>\mu\text{v/s}</math>)</b>								
<b>CONCENTRACION (ppm)</b>	<b>DIA 1</b>			<b>DIA 2</b>			<b>DIA 3</b>		
1,016	254020,380	250118,940	254356,160	239279,270	249125,490	236329,450	250236,590	262368,690	275671,300
10,160	2345568,080	2242413,630	2293555,680	2448481,860	2455503,520	2237299,660	2099436,340	2141913,010	2127425,040
14,225	6876220,550	7203895,130	6906835,510	7553527,600	7663794,150	7588941,420	8338190,480	8374746,080	8180455,070

## 4.5 Valores de Área de la soluciones fortificadas del Chlorpyrifos(Dursban)

<b>Chlorpyrifos (Dursban)</b>	<b>AREA (<math>\mu\text{v/s}</math>)</b>								
<b>CONCENTRACION (ppm)</b>	<b>DIA 1</b>			<b>DIA 2</b>			<b>DIA 3</b>		
1,00	403928,570	401316,120	406180,130	372431,290	369517,650	375238,590	368034,010	367985,850	378010,200
10,00	4763510,360	4582680,860	4559120,070	4676085,990	4452856,600	4246355,480	3977515,000	3970081,590	3936763,280
14,00	10451082,090	10625945,050	10499730,310	10726659,070	10785059,490	10898739,890	11445090,360	11439763,130	11380114,880

#### 4.6 Valores de Área de la soluciones fortificadas Stirofos (tetrachlorvinphos)

Stirofos (tetrachlorvinphos) CONCENTRACION (ppm)	AREA ( $\mu\text{v/s}$ )								
	DIA 1			DIA 2			DIA 3		
1,040	No Detecta	No Detecta	No Detecta	No Detecta	No Detecta	No Detecta	No Detecta	No Detecta	No Detecta
10,402	1083835,910	999389,680	998977,080	1009872,540	1007951,540	919490,510	No Detecta	No Detecto	No Detecta
14,563	No Detecta	No Detecta	No Detecta	No Detecta	No Detecta	No Detecta	No Detecta	No Detecta	No Detecta

#### 4.7 Valores de Área de la soluciones fortificadas del Disulfoton Sulfon

Disulfoton Sulfon CONCENTRACION (ppm)	AREA ( $\mu\text{v/s}$ )								
	DIA 1			DIA 2			DIA 3		
1,016	378404,070	386036,340	387633,640	368877,730	367079,240	365385,790	388724,930	376464,570	419943,920
10,160	3796224,750	3595426,920	3606593,790	4061100,210	3750057,480	3772001,380	4368179,440	4161932,790	4172105,130
14,225	9802618,730	10299609,510	9930961,860	10546108,660	10662220,690	10583896,010	10791396,660	10742370,870	10769340,080

#### 4.2 Valores de áreas de las soluciones de calibración

Tabla.4.8 Valores de Área de soluciones de calibración del Dichlorvos(DDVP)

Dichlorvos(DDVP) CONCENTRACION (ppm)	AREA ( $\mu\text{v/s}$ )		
	DIA 1	DIA 2	DIA 3
0,617	58482,020	45914,580	43648,980
1,014	1699913,020	1458257,280	1255495,630
10,141	24255003,890	19947372,600	16041806,350
14,198	32011816,990	28984193,010	28593916,170



**Tabla 4.9 Valores de Área de soluciones de calibración del Mevinphos(phosdrin)**

<b>Mevinphos(phosdrin)</b>	<b>AREA (<math>\mu\text{v/s}</math>)</b>		
	<b>DIA 1</b>	<b>DIA 2</b>	<b>DIA 3</b>
<b>CONCENTRACION (ppm)</b>			
0,600	50437,460	33040,060	36506,310
1,00	778028,260	708800,360	752598,500
10,00	18843319,500	17175130,090	12889646,940
14,00	27276079,220	24360098,030	24704278,040

**4.10 Valores de Área de soluciones de calibración del Ethoprophos**

<b>Ethoprophos</b>	<b>AREA (<math>\mu\text{v/s}</math>)</b>		
	<b>DIA 1</b>	<b>DIA 2</b>	<b>DIA 3</b>
<b>CONCENTRACION (ppm)</b>			
0,598	69246,030	53585,620	49907,890
0,998	1023351,110	836856,600	883818,920
9,984	15791836,670	14488930,390	12086816,250
13,977	20614143,090	19279549,700	19888899,050

**4.11 Valores de Área de soluciones de calibración del Methylparaaxon(Parathion)**

<b>Methylparaaxon(Parathion)</b>	<b>AREA (<math>\mu\text{v/s}</math>)</b>		
	<b>DIA 1</b>	<b>DIA 2</b>	<b>DIA 3</b>
<b>CONCENTRACION (ppm)</b>			
0,619	26298,370	18062,780	14990,840
1,016	461842,020	416121,280	429630,360
10,160	10306680,070	8842031,560	6943923,840
14,225	17092385,660	16620641,080	17557760,630

## 4.12 Valores de Área de soluciones de calibración del Chlorpyrifos(Dursban)

Chlorpyrifos(Dursban)	AREA ( $\mu\text{v/s}$ )		
	CONCENTRACION (ppm)	DIA 1	DIA 2
0,6	28591,220	17390,270	16290,300
1,00	519157,720	469513,240	482843,570
10,00	13797036,700	12307499,710	9566306,210
14,00	18489504,990	18276863,490	19085844,270

## 4.13 Valores de Área de soluciones de calibración del Stirofos (tetrachlorvinphos)

Chlorpyrifos(Dursban)	AREA ( $\mu\text{v/s}$ )		
	CONCENTRACION (PPM)	DIA 1	DIA 2
0,624	16087,080	11313,210	8917,730
1,040	297763,060	240413,470	238704,380
10,402	6812723,320	6029731,640	4705915,030
14,563	30601181,890	30077185,790	30291997,110

## 4.14 Valores de Área de soluciones de calibración del Disulfoton Sulfon

Disulfoton Sulfon	AREA ( $\mu\text{v/s}$ )		
	CONCENTRACION (ppm)	DIA 1	DIA 2
0,619	20166,720	14447,900	16380,610
1,016	410237,190	401079,910	413507,250
10,160	12920916,270	11373940,660	8618753,880
14,225	No Detecta	No Detecta	No Detecta

### 4.3 Valores de Área de Blancos

#### 4.15 Valores de Área de Blancos

Área( $\mu\text{v/s}$ )									
	DIA 1			DIA 2			DIA3		
Repetición	1	2	3	1	2	3	1	2	3
Dichlorvos (DDVP)	-	27041,76	8238,89	-	29284,03	32523,11	-	78684,42	117305,77
Mevinphos (phosdrin)	5217,04	31945,21	11945,46	-	42760,19	30771,05	-	120230,47	133678,57
Ethoprophos	5378,61	48349,63	30918,18	-	5458,38	65018,74	7132,140	152604,31	188463,68
Methylparaoxon (Parathion)	-	14359,74	-	10757,68	16364,43	5630,49	12013,29	70214,46	46548,52
Chlorpyrifos (Dursban)	-	20126,05	-	-	23448,10	17588,27		84843,08	104663,75
Stirofos	-	5803,500	-	-	-	-		35684,28	32979,36
Disulfoton Sulfon	2774,09	-	-	-	39714,06	7601,58		89949,13	77919,79

## CAPITULO V

### CÁLCULOS Y RESULTADOS

#### 5.1 Curva de Calibración del Equipo

Con los valores de área de las soluciones de calibración de cada analito en función de la concentración, se procede a construir la curva de calibración de acuerdo a una regresión lineal como se muestra a continuación:

Tabla 5.1 Área promedio de solución de calibración del Dichlorvos (DDVP)

DDVP	
Concentración(ppm)	Área Promedio (µV/s)
0,617	49348,527
1,014	928919,633
10,141	20081394,280
14,198	29863308,723

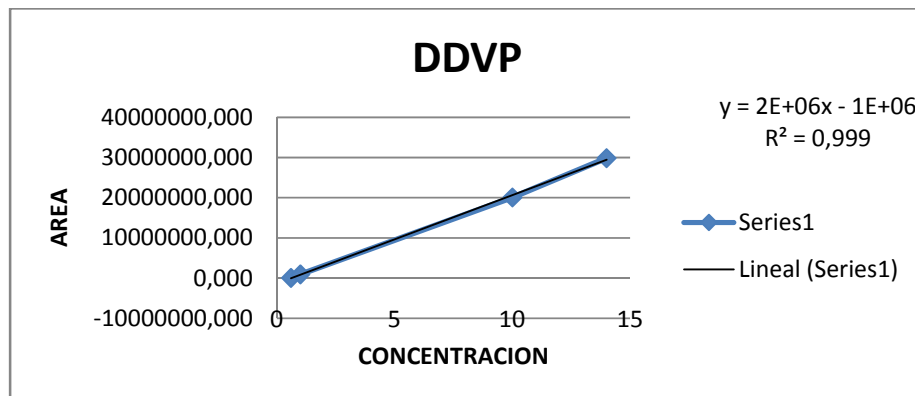
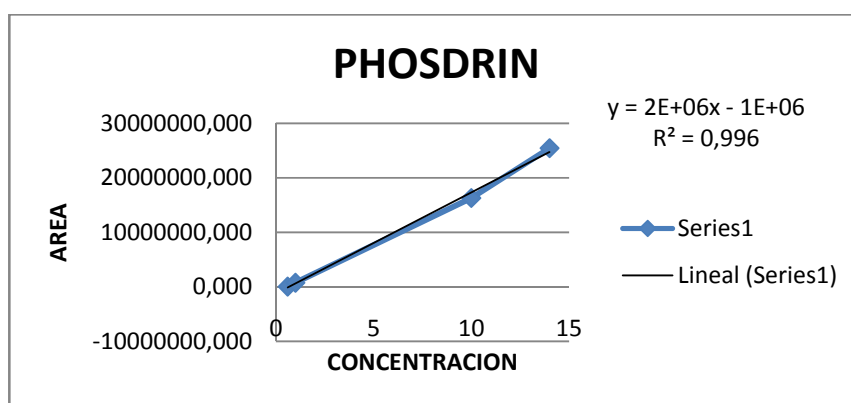


Figura 5.1 Gráfica Área de DDVP vs. Concentración

**Tabla 5.2 Área promedio de solución de calibración del Mevinphos(phosdrin)**

<b>Mevinphos(phosdrin)</b>	
<b>Concentración(ppm)</b>	<b>Área Promedio (μV/s)</b>
0,6	39994,610
1,00	746475,707
10,00	16302698,843
14,00	25446818,430



**Figura 5.2 Gráfica Área de Mevinphos(phosdrin) vs. Concentración**

**Tabla 5.3 Área promedio de solución de calibración del Ethoprophos**

<b>Ethoprophos</b>	
<b>Concentración(ppm)</b>	<b>Área Promedio r(μV/s)</b>
0,598	57579,847
0,998	914675,543
9,984	14122527,770
13,977	19927530,613

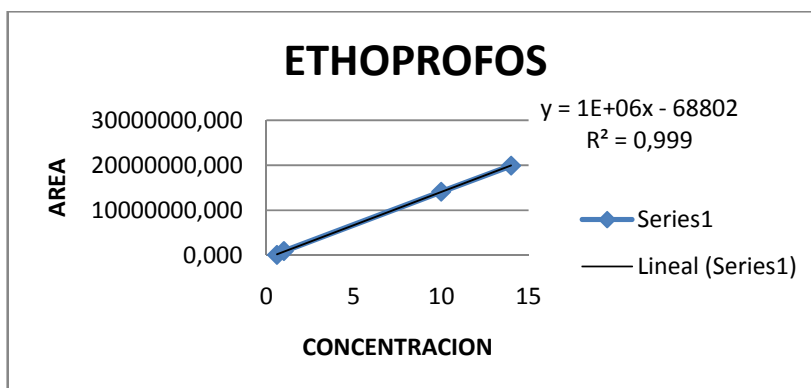


Figura 5.3 Gráfica Área de Ethoprofos vs. Concentración

Tabla 5.4 Área promedio de solución de calibración del Methylparaoxon(Parathion)

Methylparaoxon(Parathion)	
Concentración(ppm)	Área Promedio(μV/s)
0,619	19783,997
1,016	435864,553
10,160	10306680,070
14,225	17090262,457

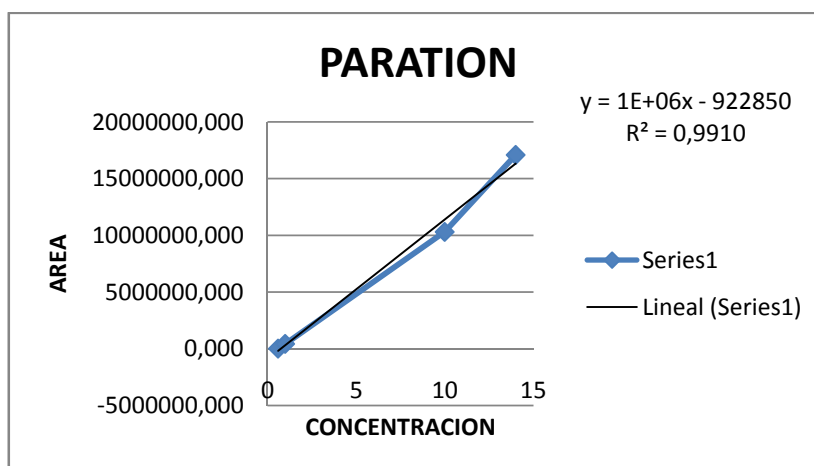
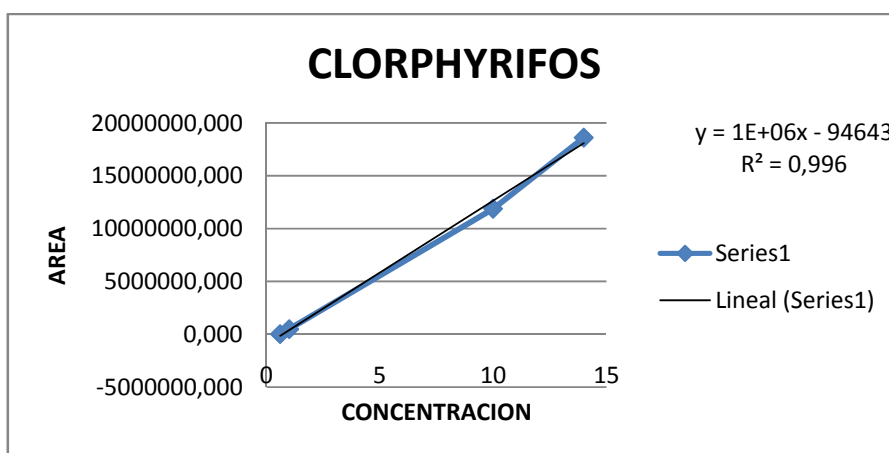


Figura 5.4 Gráfica Área del Methylparaoxon(Parathion) vs. Concentración

**Tabla 5.5 Área promedio de solución de calibración del Chlorpyrifos(Dursban)**

Chlorpyrifos(Dursban)	
Concentración(ppm)	Área Promedio (μV/s)
0,6	20757,263
1,00	490504,843
10,00	11890280,873
14,00	18617404,250



**Figura 5.5 Gráfica Área del Chlorpyrifos(Dursban) vs. Concentración**

**Tabla 5.6 Área promedio de solución de calibración del Stirofos (tetrachlorvinphos)**

Stirofos (tetrachlorvinphos)	
Concentración(ppm)	Área Promedio (μV/s)
0,624	12106,007
1,040	386000,000
10,402	No Detecta
14,563	30323454,930

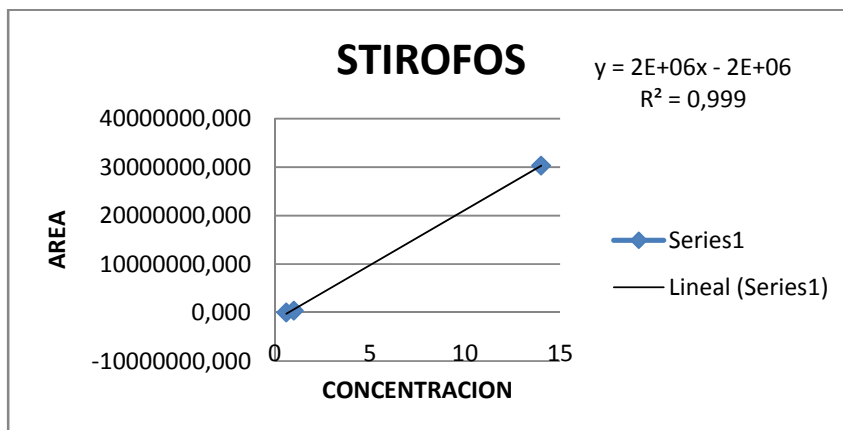


Figura 5.6 Gráfica Área del Stirofos (tetrachlorvinphos) vs. Concentración

Tabla 5.7 Área promedio de solución de calibración del Disulfoton Sulfon

Disulfoton Sulfon	
Concentración(ppm)	Área Promedio (μV/s)
0,619	16998,410
1,016	408274,783
10,160	10971203,603
14,225	No Detecta

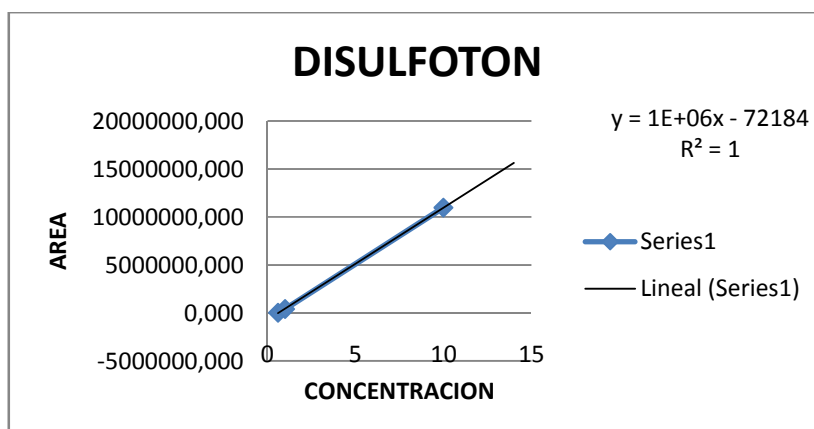


Figura 5.7 Gráfica Área del Disulfoton Sulfon vs. Concentración



## 5.2 Cálculo de Concentración de Soluciones Fortificadas

Tomando como ejemplo la tabla 4.1 (valores de áreas de las soluciones fortificadas del Dichlorvos (DDVP) ) y la ecuación correspondiente a la gráfica del Área del Dichlorvos (DDVP) vs. Concentración, se calcula la concentración de la siguiente manera:

$$y = 2000000x - 1000000$$

$$829483,450 = 2000000x - 1000000$$

$$x = (829483,450 + 1000000) / 2000000$$

$$x = \mathbf{0,915}$$

Con las ecuaciones de las curvas de calibración correspondientes a cada analito se obtienen los resultados de concentración representados en las siguientes tablas (5.8 a 5.14):

**Tabla 5.8 Valores de Concentración del Dichlorvos(DDVP)**

Concentración(ppm)	Concentración(ppm)								
	DIA 1			DIA 2			DIA 3		
1,014	<b>0,915</b>	0,867	0,889	0,836	0,837	0,828	0,803	0,804	0,8,16
10,141	3,54	3,450	3,290	3,430	3,300	3,060	3,00	3,020	2,960
14,198	9,37	9,210	9,150	8,670	8,820	8,930	9,070	9,210	9,170

**Tabla 5.9 Valores de Concentración del Mevinphos(phosdrin)**

Concentración (ppm)	Concentración(ppm)								
	DIA 1			DIA 2			DIA 3		
1,00	0,669	0,674	0,666	0,645	0,642	0,643	0,655	0,655	0,648
10,00	2,069	2,029	2,037	2,075	2,008	1,918	1,870	1,871	1,855
14,00	5,335	5,365	5,295	5,214	5,302	5,427	5,745	5,744	5,710

Tabla 5.10 Valores de Concentración del Ethoprophos

Concentración (ppm)	Concentración(ppm)								
	DIA 1			DIA 2			DIA 3		
0,998	1,651	1,643	1,719	1,524	1,523	1,537	1,485	1,647	1,513
9,984	8,071	7,911	7,862	7,755	7,313	6,995	6,630	6,615	6,533
13,977	16,486	16,235	16,241	15,674	15,960	16,203	16,414	16,715	16,740

5.11 Valores de Concentración del Methylparaaxon(Parathion)

Concentración (ppm)	Concentración(ppm)								
	DIA 1			DIA 2			DIA 3		
1,016	1,177	1,173	1,177	1,162	1,172	1,159	1,173	1,185	1,199
10,160	3,268	3,165	3,216	3,371	3,378	3,160	3,022	3,065	3,050
14,225	7,799	8,127	7,830	8,476	8,587	8,512	9,261	9,298	9,103

Tabla 5.12 Valores de Concentración del Chlorpyrifos(Dursban)

Concentración (ppm)	Concentración (ppm)								
	DIA 1			DIA 2			DIA 3		
1,00	1,350	1,348	1,353	1,319	1,316	1,322	1,314	1,314	1,324
10,00	5,710	5,529	5,506	5,623	5,399	5,193	4,924	4,917	4,883
14,00	11,398	11,572	11,446	11,673	11,731	11,845	12,392	12,386	12,327

Tabla 5.13 Valores de Concentración del Stirofos(tetrachlorvinphos)

Concentración (ppm)	Concentración (ppm)								
	DIA 1			DIA 2			DIA 3		
1,040	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
10,402	1,542	1,500	1,499	1,505	1,504	1,460	1,000	1,000	1,000
14,563	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

Tabla 5.14 Valores en Concentración del Disulfoton Sulfon

Concentración (ppm)	Concentración (ppm)								
	DIA 1			DIA 2			DIA 3		
1,016	1,100	1,108	1,109	1,091	1,089	1,087	1,111	1,098	1,142
10,160	4,518	4,317	4,328	4,783	4,472	4,494	5,090	4,884	4,894
14,225	10,524	11,021	10,653	11,268	11,384	11,306	11,513	11,464	11,491

La tabla 5.15 y 5.16 representa los valores de concentración de los blancos y promedio de blancos:

Tabla 5.15 Valores de concentración de Blancos

Repetición	Concentración(ppm)								
	DIA 1			DIA 2			DIA 3		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3
Dichlorvos (DDVP)	-	0,514	0,504	-	0,515	0,516	-	0,539	0,559
Mevinphos (phosdrin)	0,503	0,516	0,506	-	0,521	0,515	-	0,560	0,567
Ethoprophos	0,693	0,736	0,719	-	0,743	0,753	0,695	0,841	0,876
Methylparaoxon (Parathion)	-	0,937	-	0,934	0,939	0,928	0,935	0,993	0,969
Chlorpyrifos (Dursban)	-	0,967	-	-	0,970	0,964	-	1,031	1,051
Stirofos	-	1,003	-	-	-	-	-	1,018	1,016
Disulfoton Sulfon	0,725	-	-	-	0,762	0,729	-	0,812	0,800

**Tabla 5.16 Valores promedio de concentración de Blancos**

Analito	Concentración (ppm)				PROMEDIO ECUACION(37)
	DIA 1	DIA 2	DIA 3	PROMEDIO	
<b>Dichlorvos (DDVP)</b>	0,339	0,343	0,366	0,349	0,0005
<b>Mevinphos (phosdrin)</b>	0,508	0,345	0,375	0,409	0,0005
<b>Ethoprophos</b>	0,716	0,498	0,804	0,672	0,0008
<b>Methylparaaxon (Parathion)</b>	0,312	0,933	0,965	0,737	0,0009
<b>Chlorpyrifos (Dursban)</b>	0,322	0,644	0,694	0,553	0,0010
<b>Stirofos</b>	0,334	-	0,678	0,337	0,0010
<b>Disulfoton Sulfon</b>	0,241	0,497	0,537	0,425	0,0008

En las siguientes tablas (5.17 a 5.23) se resume los valores promedio de concentración de cada uno de los analitos, restados los promedios de blancos respectivamente y aplicando la ecuación (37):

**Tabla5.17 Valores Promedio de Concentración del Dichlorvos(DDVP)**

Concentración (ppm)	Concentración (ppm)			
	DIA 1	DIA 2	DIA 3	PROMEDIO
0,001	0,0005	0,0005	0,0004	0,0005
0,010	0,003	0,0029	0,0029	0,0026
0,014	0,009	0,008	0,008	0,008

**Tabla5.18 Valores Promedio de Concentración del Mevinphos(phosdrin)**

Concentración (ppm)	Concentración (ppm)			
	DIA 1	DIA 2	DIA 3	PROMEDIO
0,001	0,0001	0,0003	0,0003	0,0002
0,010	0,001	0,001	0,001	0,002
0,014	0,004	0,004	0,005	0,005

**Tabla5.19 Valores Promedio de Concentración del Ethoprophos**

Concentración (ppm)	Concentración (ppm)			
	DIA 1	DIA 2	DIA 3	PROMEDIO
0,001	0,009	0,001	0,007	0,009
0,010	0,007	0,006	0,005	0,007
0,014	0,015	0,015	0,015	0,015

**Tabla5.20 Valores Promedio de Concentración del Methylparaoxon(Parathion)**

Concentración (ppm)	Concentración (ppm)			
	DIA 1	DIA 2	DIA 3	PROMEDIO
0,001	0,0008	0,0002	0,0002	0,0004
0,010	0,002	0,002	0,002	0,002
0,014	0,007	0,007	0,008	0,008

**Tabla5.21 Valores Promedio de Concentración del Chlorpyrifos(Dursban)**

Concentración (ppm)	Concentración (ppm)			
	DIA 1	DIA 2	DIA 3	PROMEDIO
0,001	0,001	0,0006	0,0006	0,0007
0,010	0,005	0,004	0,004	0,005
0,014	0,011	0,011	0,011	0,011

**Tabla5.22 Valores Promedio de Concentración del Stirofos(tetrachlorvinphos)**

Concentración (ppm)	Concentración (ppm)			
	DIA 1	DIA 2	DIA 3	PROMEDIO
0,001	0,0006	0,001	0,0003	0,0006
0,010	0,001	0,0015	0,0003	0,0009
0,014	0,0006	0,001	0,0003	0,0006

**Tabla5.23 Valores Promedio de Concentración del Disulfoton Sulfon**

Concentración (ppm)	Concentración (ppm)			
	DIA 1	DIA 2	DIA 3	PROMEDIO
0,001	0,0008	0,0006	0,0006	0,0007
0,010	0,004	0,004	0,004	0,004
0,014	0,010	0,010	0,010	0,010

### 5.3. Cálculo de Parámetros de Validación

Se calcularon los siguientes parámetros para la validación del método analítico:

#### 5.3.1 Linealidad

- Determinación de la Curva de Ajuste

Con los resultados de concentración calculada de las soluciones fortificadas y la concentraciones teóricas se procede a realizar el ajuste :

**Tabla5.24 Cálculo la Curva de Ajuste del Dichlorvos (DDVP)**

n	Concentración calculada (ppm)	Concentración teórica (ppm)	x*2	x*y	y*2
1	0,0005	0,0010	0,000001	0,0000005	0,0000002
2	0,0026	0,0100	0,0001	0,00003	0,00001
3	0,0087	0,0140	0,0002	0,0001	0,0001
<b>SUMA</b>	<b>0,0118</b>	<b>0,0250</b>	<b>0,0003</b>	<b>0,0001</b>	<b>0,0001</b>

<b>PROMEDIO (xm)</b>	<b>0,0039</b>	<b>0,0083</b>	<b>0,0001</b>	<b>0,00005</b>	<b>0,00003</b>
----------------------	---------------	---------------	---------------	----------------	----------------

Tomando como ejemplo los datos del Compuesto Dichlorvos (DDVP) de la tabla 5.24 y reemplazándolos en las ecuaciones (14) y (15), se calculó el valor de la pendiente “*m*” y de la coordenada de origen “*b*”.

$$m = \frac{3 * 0,0001 - 0,025 * 0,012}{3 * 0,0003 - (0,025)^2} = 0,565$$

$$b = \frac{0,012 - 0,565 * 0,025}{3} = -0,001$$

A continuación se presenta la tabla 5.25 con los valores de las pendientes “*m*” y de las coordenadas del origen “*b*” de los siete compuestos órganofosforados analizados:

**Tabla 5.25 Pendiente(*m*) y Coordenada(*b*) del Origen de los Compuestos Órganofosforados**

<b>COMPUESTO</b>	<b>Pendiente(<i>m</i>)</b>	<b>Coordenada de Origen (<i>b</i>)</b>
Dichlorvos(DDVP)	0,565	-0,001
Mevinphos(phosdrin)	0,332	-0,0005
Ethoprophos	1,048	-0,001
Methylparaoxon(Parathion)	0,510	-0,001
Chlorpyrifos(Dursban)	0,748	-0,001
Stirofos(tetrachlorvinphos)	0,006	0,001
Disulfoton Sulfon	0,711	-0,001
Global	0,560	-0,0006

- Cálculo las desviaciones estándar y el coeficiente de correlación en la curva de ajuste

**Tabla 5.26 Cálculos para determinar las desviaciones del Dichlorvos (DDVP)**

n	yEst=b+mx	(y-yEst) <sup>2</sup>	xEst=(y-b)/m	(x-xEst) <sup>2</sup>	(x-xm) <sup>2</sup>
1	-0,0002	0,0000005	0,002	0,000002	0,0001
2	0,005	0,00001	0,006	0,00002	0,000003
3	0,007	0,000002	0,017	0,00001	0,00003
Suma:	0,012	0,00001	0,025	0,00003	0,0001

Tomando como ejemplo los cálculos del Dichlorvos(DDVP) de la tabla 5.26 y reemplazándolos en las ecuaciones (15), (17), (18),(20):

$$S_{yx} = \sqrt{\frac{0,00001}{3-2}} = 0,003$$

$$S_{xy} = \sqrt{\frac{0,00003}{3-2}} = 0,005$$

$$S_m = \frac{0,003}{\sqrt{0,0001}} = 0,301$$

$$S_b = 0,301 * \sqrt{\frac{0,0003}{3}} = 0,003$$

A continuación se presenta la tabla 5.27 con los valores de “Syx”, ”Sxy”, ”Sm”, ”Sb” de los siete compuestos órganofosforados analizados:

**Tabla 5.27 Valores de Desviaciones**

Compuesto	Syx	Sxy	Sm	Sb
Dichlorvos(DDVP)	0,003	0,005	0,301	0,003
Mevinphos(phosdrin)	0,002	0,005	0,170	0,002
Ethoprophos	0,004	0,003	0,378	0,004
Methylparaaxon(Parathion)	0,002	0,005	0,262	0,003
Chlorpyrifos(Dursban)	0,003	0,004	0,281	0,003
Stirofos(tetrachlorvinphos)	0,0003	0,042	0,028	0,0003



Disulfoton Sulfon	0,003	0,004	0,291	0,003
Global	0,002	0,001	0,244	0,002

Cálculo del Coeficiente de correlación:

Remplazando en la ecuación (22) y utilizando los cálculos de la tabla 5.24, se obtiene:

$$r = \frac{3 * (0,000) - (0,025)(0,012)}{\sqrt{((3 * (0,000) - (0,025)^2) * (3 * (0,000) - (0,012)^2))}} = 0,882$$

A continuación se presenta la siguiente tabla con los valores los coeficientes de correlación “r” de los siete compuestos órganofosforados analizados:

**Tabla 5.28 Valores de Coeficientes de Correlación**

Compuesto	Coefficiente de Correlación “r”
Dichlorvos(DDVP)	0,882
Mevinphos(phosdrin)	0,890
Ethoprophos	0,941
Methylparaaxon(Parathion)	0,889
Chlorpyrifos(Dursban)	0,936
Stirofos(tetrachlorvinphos)	0,217
Disulfoton Sulfon	0,925
Global	0,811

### 5.3.2 PRECISIÓN (REPETIBILIDAD Y REPRODUCIBILIDAD)

Se realiza el análisis para las soluciones de validación de 0,001ppm; 0,010ppm y 0,014ppm e inyectando 3 veces cada nivel.

Tomamos como Ejemplo al compuesto Dichlorvos (DDVP) de nivel de concentración 0,001ppm y reemplazando en las ecuaciones (1) a (8), obtenemos:

**Tabla5.29 Análisis Simple varianza del Dichlorvos (DDVP)**

ANÁLISIS SIMPLE DE LA VARIANZA			
ORIGEN DE LA VARIANZA	GRADOS DE LIBERTAD ( $\nu$ )	SUMAS DE DIFERENCIAS CUADRÁTICAS (SDC)	DIFERENCIAS CUADRÁTICAS MEDIAS (DCM = SDC/ $\nu$ )
ENTRE GRUPOS ( <i>BETWEEN</i> )	$\nu_1 = 3-1=2$	SDC <sub>B</sub> =3*(0,003)= <b>0,010</b>	DCM <sub>B</sub> =1,07E-02/2= <b>0,005</b>
DENTRO DEL GRUPO ( <i>WITHIN</i> )	$\nu_2 = 9-3=6$	SDC <sub>w</sub> = 1,158E-03+5,128E- 05+1,042E-04= <b>0,001</b>	DCM <sub>w</sub> = 1,31E-03/6= <b>0,0002</b>

A continuación, se calcula la desviación estándar de la repetibilidad ( $s_r$ ), reemplazando la ecuación (9), se obtiene:

$$s_r = \sqrt{2,19E - 04} = 0,015$$

Para el cálculo de la desviación de reproducibilidad, se reemplaza los datos en la ecuación (11), se tiene:

$$s_L^2 = \frac{5,34E - 03 - 2,19E - 04}{3} = 0,001$$

La reproducibilidad ( $s_R$ ) mediante la ecuación (10), se obtiene:

$$s_R = \sqrt{(1,48E - 02)^2 + (1,706E - 03)^2} = 0,015$$

Para el cálculo de los coeficientes de variación de la repetibilidad, según ecuación (12):

$$cvr(\%) = \frac{1,48E - 02}{8,08E - 01} * 100 = 1,83\%$$

$$CVR(\%) = \frac{1,49E - 02}{8,44E - 01} * 100 = 1,77\%$$

A continuación se presenta las tablas 5.30 a 5.32 con los resultados de la precisión de los siete compuestos órganofosforados analizados con un nivel de concentración de 0,001ppm ; 0,010ppm y 0,014ppm:

**Tabla 5.30 Valores de Precisión de Compuestos Organofosforados nivel de concentración 0,001ppm**

Compuesto	Sr	SR	cvr(%)	CVR(%)
Dichlorvos(DDVP)	0,015	0,015	1,83	1,77
Mevinphos(phosdrin)	0,004	0,004	0,556	0,547
Ethoprophos	0,056	0,056	3,641	3,530
Methylparaoxon(Parathion)	0,008	0,008	0,722	0,716
Chlorpyrifos(Dursban)	0,004	0,004	0,302	0,300
Stirofos(tetrachlorvinphos)	0,000	0,000	0,000	0,000
Disulfoton Sulfon	0,013	0,013	1,221	1,204

**Tabla 5.31 Valores de Precisión de Compuestos Organofosforados nivel de concentración 0,01ppm**

Compuesto	Sr	SR	cvr(%)	CVR(%)
Dichlorvos(DDVP)	0,134	0,140	4,466	4,343
Mevinphos(phosdrin)	0,047	0,048	2,539	2,438

Ethoprophos	0,231	0,500	3,506	6,854
Methylparaoxon(Parathion)	0,079	0,080	2,578	2,508
Chlorpyrifos(Dursban)	0,140	0,182	2,861	3,431
Stirofos(tetrachlorvinphos)	0,021	0,086	2,052	6,471
Disulfoton Sulfon	0,137	0,157	3,124	3,387

**Tabla 5.32 Valores de Precisión de Compuestos Organofosforados nivel de concentración 0,014ppm**

Compuesto	Sr	SR	cvr(%)	CVR(%)
Dichlorvos(DDVP)	0,109	0,120	1,240	1,320
Mevinphos(phosdrin)	0,066	0,086	1,241	1,570
Ethoprophos	0,203	0,227	1,272	1,391
Methylparaoxon(Parathion)	0,125	0,438	1,574	5,114
Chlorpyrifos(Dursban)	0,076	0,222	0,658	1,869
Stirofos(tetrachlorvinphos)	0,000	0,000	0,000	0,000
Disulfoton Sulfon	0,153	0,214	1,430	1,918

### 5.3.3 LIMITE DE DETECCIÓN Y CUANTIFICACIÓN

Para el cálculo de los límites de detección y de cuantificación se utilizaron las ecuaciones (23) y (24).

Tomando como ejemplo los datos del Compuesto Dichlorvos (DDVP) de la tabla 5.15 y reemplazándolos en las ecuaciones (29) y (31) obtenemos la desviación y media general y de blancos:

<b>S<sub>b</sub></b>	0,00002
<b>B</b>	0,0005

Luego, se aplicó la ecuaciones (23) (24), y se obtiene:

$$LD = 0,0005 + 3 * (0,00002) = 0,0005$$

$$LD = 0,0005 + 10 * (0,00002) = 0,0007$$

A continuación se presenta la siguiente tabla con los valores los Límites de Detección y Límites de Cuantificación de los siete compuestos órganofosforados analizados:

**Tabla5.33 Límite de Detección y Límite de Cuantificación**

<b>Compuesto</b>	<b>Límite de Detección(ppm)</b>	<b>Límite de Cuantificación(ppm)</b>
Dichlorvos(DDVP)	0,0005	0,0007
Mevinphos(phosdrin)	0,0006	0,0007
Ethoprophos	0,0009	0,001
Methylparaaxon(Parathion)	0,001	0,001
Chlorpyrifos(Dursban)	0,001	0,001
Stirofos(tetrachlorvinphos)	0,001	0,001
Disulfoton Sulfon	0,0008	0,001
Global	0,0008	0,0009

### 5.3.4 INTERVALO DE TRABAJO

El intervalo de trabajo que se escogió para el análisis de pesticidas órganofosforados en agua conociendo el límite de cuantificación que puede coincidir con el límite inferior es de **0,0009ppm a 0,020ppm**.

### 5.3.5 INCERTIDUMBRE DEL MÉTODO

Para el cálculo de la incertidumbre del Método se requiere la incertidumbre ( $\mu$ ) de los materiales utilizados los que constan en la tabla 5.34:

**Tabla 5.34 Incertidumbre de los Materiales**

INCERTIDUMBRE DE MATERIALES	
MATERIAL	$\mu$
ESTÁNDAR	0,0067
balón de 25 ml	0,040
balón de 10 ml	0,025
balón de 100 ml	0,100
balón de 250 ml	0,150
balón de 1000 ml	0,300
pipeta	0,006

#### Cálculo de la Incertidumbre en la preparación de las muestras fortificadas:

El modelo general es el siguiente:

$$\mu_{Muestra} = \sqrt{(\mu_{balón})^2 + (\mu_{St})^2 + (\mu_{pipeta})^2} \quad (33)$$

Donde:

$\mu_{balón}$  = Incertidumbre del balón de 1000 ml

$\mu_{St}$  = Incertidumbre Dilución de solución Estándar

$\mu_{pipeta}$  = Incertidumbre de la pipeta

Cálculo de la Incertidumbre en la Dilución de la solución estándar ( $\mu_{St}$ ):

Tomando como la preparación del estándar Dichlorvos (DDVP) de 500ppm a 20ppm se realizó los siguientes cálculos reemplazando en la ecuación (25) y (26):

$$500ppm * 0,4mL = C_2 * 10mL$$

$$C_2 = \frac{500ppm \times 0,4mL}{10mL} = 20ppm$$

$$C_2 = \frac{500ppm \pm \frac{0,0067}{\sqrt{6}} \times 0,4mL \pm \frac{0,600}{\sqrt{6}}}{10mL \pm \frac{0,04}{\sqrt{6}}}$$

Reemplazando lo anterior en la ecuación (26):

$$\mu C_2 = 20ppm \times \sqrt{\left(\frac{0,0067}{\sqrt{6} \cdot 500}\right)^2 + \left(\frac{0,006}{\sqrt{6} \cdot 0,4}\right)^2 + \left(\frac{0,025}{\sqrt{6} \cdot 10}\right)^2}$$

$$\mu C_2 = \pm 0,125$$

Las tablas 5.35 a 5.41 muestran las incertidumbres en la preparación de los estándares por

cada analito:

**Tabla 5.35 Incertidumbre del Dichlorvos(DDVP) en la preparación de Estándares**

<b>CONCENTRACION (ppm)</b>	<b>V1 = ml TOMADOS DEL ESTANDAR</b>	<b>μC2</b>
<b>501,760</b>	0,000	
<b>20,000</b>	0,399	0,125
<b>10,000</b>	0,498	0,050
<b>1,000</b>	0,100	0,025
<b>10,000</b>	1,000	0,060
<b>14,000</b>	0,700	0,106

**Tabla 5.36 Incertidumbre del Mevinphos (Phosdrin) en la preparación de Estándares**

<b>CONCENTRACION (ppm)</b>	<b>V1 = ml TOMADOS DEL ESTANDAR</b>	<b>μC2</b>
<b>500,000</b>	0,000	
<b>20,000</b>	0,400	0,124
<b>10,000</b>	0,500	0,049
<b>1,000</b>	0,100	0,025
<b>10,000</b>	1,000	0,060
<b>14,000</b>	0,700	0,105

**Tabla 5.37 Incertidumbre del Ethoprophos en la preparación de Estándares**

<b>CONCENTRACION (ppm)</b>	<b>V1 = ml TOMADOS DEL ESTANDAR</b>	<b>μC2</b>
<b>499,800</b>	0,000	
<b>20,000</b>	0,400	0,124
<b>10,000</b>	0,500	0,049
<b>1,000</b>	0,100	0,025
<b>10,000</b>	1,000	0,060



14,000	0,700	0,105
--------	-------	-------

**Tabla 5.38 Incertidumbre del Methyl Paraoxon(Parathion) en la preparación de Estándares**

CONCENTRACION (ppm)	V1 = ml TOMADOS DEL ESTANDAR	$\mu C2$
502,000	0,000	
20,000	0,398	0,125
10,000	0,498	0,050
1,000	0,100	0,025
10,000	1,000	0,061
14,000	0,700	0,106

**Tabla 5.39 Incertidumbre del Chlorpyrifos(Dursban) en la preparación de Estándares**

CONCENTRACION (ppm)	V1 = ml TOMADOS DEL ESTANDAR	$\mu C2$
500,000	0,000	
20,000	0,400	0,124
10,000	0,500	0,049
1,000	0,100	0,025
10,000	1,000	0,060
14,000	0,700	0,105

**Tabla 5.40 Incertidumbre del Stirofos(Tetrachlorvinphos) en la preparación de Estándares**

CONCENTRACION (ppm)	V1 = ml TOMADOS DEL ESTANDAR	$\mu C2$
504,96	0,000	
20,000	0,396	0,125
10,000	0,495	0,050
1,000	0,100	0,025
10,000	1,000	0,061
14,000	0,700	0,106

**Tabla 5.41 Incertidumbre del Disulfoton Sulfon en la preparación de Estándares**

CONCENTRACION (ppm)	V1 = ml TOMADOS DEL ESTANDAR	$\mu C2$
502	0,000	
20,000	0,398	0,125
10,000	0,498	0,050
1,000	0,100	0,025
10,000	1,000	0,061
14,000	0,700	0,106

Con los valores de la incertidumbre de las diluciones de las soluciones estándar, aplicamos el modelo general (33) para obtener la incertidumbre en la preparación de las soluciones fortificadas:

Tomamos como ejemplo el cálculo de la incertidumbre de la solución fortificadas de 0,014ppm:

$$\mu Muestra = \sqrt{\left(\frac{0,30}{\sqrt{6}}\right)^2 + (0,106)^2 + \left(\frac{0,006}{\sqrt{6}}\right)^2}$$

$$\mu Muestra = \pm 0,162$$

Las tablas 5.42 y 5.48 muestran las incertidumbres ( $\mu C2$ ) en las soluciones fortificadas:

**Tabla 5.42 Incertidumbre del Dichlorvos (DDVP)**

CONCENTRACION (ppm)	V1 = ml TOMADOS DEL ESTANDAR	$\mu C2$
0,001	0,100	0,125

<b>0,010</b>	1,000	0,137
<b>0,014</b>	0,700	0,162

Tabla 5.43 Incertidumbre del Mevinphos (Phosdrin)

<b>CONCENTRACION (ppm)</b>	<b>V1 = ml TOMADOS DEL ESTANDAR</b>	<b><math>\mu C2</math></b>
<b>0,001</b>	0,100	0,125
<b>0,010</b>	1,000	0,137
<b>0,014</b>	0,700	0,162

Tabla 5.44 Incertidumbre del Ethoprophos

<b>CONCENTRACION (ppm)</b>	<b>V1 = ml TOMADOS DEL ESTANDAR</b>	<b><math>\mu C2</math></b>
<b>0,001</b>	0,100	0,125
<b>0,010</b>	1,000	0,137
<b>0,014</b>	0,700	0,162

Tabla 5.45 Incertidumbre del Paraoxon (Parathion)

<b>CONCENTRACION (ppm)</b>	<b>V1 = ml TOMADOS DEL ESTANDAR</b>	<b><math>\mu C2</math></b>
<b>0,001</b>	0,100	0,125
<b>0,010</b>	1,000	0,137
<b>0,014</b>	0,700	0,162

Tabla 5.46 Incertidumbre del Chlorpyrifos (Dursban)

<b>CONCENTRACIÓN (ppm)</b>	<b>V1 = ml TOMADOS DEL ESTANDAR</b>	<b><math>\mu C2</math></b>
<b>0,001</b>	0,100	0,125
<b>0,010</b>	1,000	0,137
<b>0,014</b>	0,700	0,162

**Tabla 5.47 Incertidumbre del Stirofos (Tetrachlorvinphos)**

CONCENTRACIÓN (ppm)	V1 = ml TOMADOS DEL ESTANDAR	$\mu C2$
0,001	0,100	0,125
0,010	1,000	0,137
0,014	0,700	0,162

**Tabla 5.48 Incertidumbre del Disulfoton Sulfon**

CONCENTRACIÓN (ppm)	V1 = ml TOMADOS DEL ESTANDAR	$\mu C2$
0,001	0,100	0,125
0,010	1,000	0,137
0,014	0,700	0,162

- Incertidumbre Expandida**

Las siguientes tablas (5.49 a 5.62) presentan la incertidumbre expandida ( $\mu_{Exp}$ ) en la preparación de las diluciones estándar y en la preparación de las soluciones fortificadas.

Se trabajó con un nivel de confianza de 95% correspondiente a 1,96 según la tabla t-Student mediante la fórmula (27):

**Tabla 5.49 Incertidumbre Expandida del Dichlorvos(DDVP) en la preparación de las diluciones Estándares**

CONCENTRACION (ppm)	V1 = ml TOMADOS DEL ESTANDAR	$\mu C2$	$\mu_{exp} = \mu * 1,96$
501,760	0,000		
20,000	0,399	0,125	0,244
10,000	0,498	0,050	0,097

<b>1,000</b>	0,100	0,025	0,049
<b>10,000</b>	1,000	0,060	0,119
<b>14,000</b>	0,700	0,106	0,207

**Tabla 5.50 Incertidumbre Expandida del Mevinphos(Phosdrin) en la preparación de las diluciones**

**Estándares**

<b>CONCENTRACION (ppm)</b>	<b>V1 = ml TOMADOS DEL ESTANDAR</b>	<b><math>\mu C2</math></b>	<b><math>\mu \text{ exp} = \mu * 1,96</math></b>
<b>500,000</b>	0,000		
<b>20,000</b>	0,400	0,124	0,243
<b>10,000</b>	0,500	0,049	0,097
<b>1,000</b>	0,100	0,025	0,049
<b>10,000</b>	1,000	0,060	0,118
<b>14,000</b>	0,700	0,105	0,207

**Tabla 5.51 Incertidumbre Expandida del Ethoprophos en la preparación de las diluciones Estándares**

<b>CONCENTRACION (ppm)</b>	<b>V1 = ml TOMADOS DEL ESTANDAR</b>	<b><math>\mu C2</math></b>	<b><math>\mu \text{ exp} = \mu * 1,96</math></b>
<b>499,800</b>	0,000		
<b>20,000</b>	0,400	0,124	0,243
<b>10,000</b>	0,500	0,049	0,097
<b>1,000</b>	0,100	0,025	0,049
<b>10,000</b>	1,000	0,060	0,118
<b>14,000</b>	0,700	0,105	0,207

**Tabla 5.52 Incertidumbre Expandida Paraoxon(Parathion) del en la preparación de las diluciones**

**Estándares**

<b>CONCENTRACION (ppm)</b>	<b>V1 = ml TOMADOS DEL ESTANDAR</b>	<b><math>\mu C2</math></b>	<b><math>\mu \text{ exp} = \mu * 1,96</math></b>
<b>502</b>	0,000		
<b>20,000</b>	0,398	0,125	0,244
<b>10,000</b>	0,498	0,050	0,097

<b>1,000</b>	0,100	0,025	0,049
<b>10,000</b>	1,000	0,061	0,119
<b>14,000</b>	0,700	0,106	0,207

**Tabla 5.53 Incertidumbre Expandida Chlorpyrifos(Dursban) del en la preparación de las diluciones Estándares**

<b>CONCENTRACION (ppm)</b>	<b>V1 = ml TOMADOS DEL ESTANDAR</b>	<b><math>\mu C2</math></b>	<b><math>\mu \text{ exp} = \mu * 1,96</math></b>
<b>500,000</b>	0,000		
<b>20,000</b>	0,400	0,124	0,243
<b>10,000</b>	0,500	0,049	0,097
<b>1,000</b>	0,100	0,025	0,049
<b>10,000</b>	1,000	0,060	0,118
<b>14,000</b>	0,700	0,105	0,207

**Tabla 5.54 Incertidumbre Expandida del Stirofos(Tetrachlorvinphos) en la preparación de las diluciones Estándares**

<b>CONCENTRACION (ppm)</b>	<b>V1 = ml TOMADOS DEL ESTANDAR</b>	<b><math>\mu C2</math></b>	<b><math>\mu \text{ exp} = \mu * 1,96</math></b>
<b>504,96</b>	0,000		
<b>20,000</b>	0,396	0,125	0,246
<b>10,000</b>	0,495	0,050	0,098
<b>1,000</b>	0,100	0,025	0,049
<b>10,000</b>	1,000	0,061	0,119
<b>14,000</b>	0,700	0,106	0,208

**Tabla 5.55 Incertidumbre Expandida del Disulfoton Sulfon en la preparación de las diluciones Estándares**

<b>CONCENTRACION (ppm)</b>	<b>V1 = ml TOMADOS</b>	<b><math>\mu C2</math></b>	<b><math>\mu \text{ exp} = \mu * 1,96</math></b>
----------------------------	------------------------	----------------------------	--

	<b>DEL ESTANDAR</b>		
<b>502</b>	0,000		
<b>20,000</b>	0,398	0,125	0,244
<b>10,000</b>	0,498	0,050	0,097
<b>1,000</b>	0,100	0,025	0,049
<b>10,000</b>	1,000	0,061	0,119
<b>14,000</b>	0,700	0,106	0,207

**Tabla 5.56 Incertidumbre Expandida de Dichlorvos (DDVP) en la preparación de las soluciones fortificadas**

<b>CONCENTRACION (ppm)</b>	<b>V1 = ml TOMADOS DEL ESTANDAR</b>	<b><math>\mu C2</math></b>	<b><math>\mu \text{ exp} = \mu * 1,96</math></b>
<b>0,001</b>	0,100	0,125	0,245
<b>0,010</b>	1,000	0,137	0,268
<b>0,014</b>	0,700	0,162	0,317

**Tabla 5.57 Incertidumbre Expandida de Mevinphos(Phosdrin) en la preparación de las soluciones fortificadas**

<b>CONCENTRACION (ppm)</b>	<b>V1 = ml TOMADOS DEL ESTANDAR</b>	<b><math>\mu C2</math></b>	<b><math>\mu \text{ exp} = \mu * 1,96</math></b>
<b>0,001</b>	0,100	0,125	0,245
<b>0,010</b>	1,000	0,137	0,268
<b>0,014</b>	0,700	0,162	0,317

**Tabla 5.58 Incertidumbre Expandida del Ethoprophos en la preparación de las soluciones fortificadas**

<b>CONCENTRACION (ppm)</b>	<b>V1 = ml TOMADOS DEL ESTANDAR</b>	<b><math>\mu C2</math></b>	<b><math>\mu \text{ exp} = \mu * 1,96</math></b>
<b>0,001</b>	0,100	0,125	0,245

<b>0,010</b>	1,000	0,137	0,268
<b>0,014</b>	0,700	0,162	0,317

**Tabla 5.59 Incertidumbre Expandida del Paraoxon(Parathion) en la preparación de las soluciones fortificadas**

<b>CONCENTRACION (ppm)</b>	<b>V1 = ml TOMADOS DEL ESTANDAR</b>	<b><math>\mu C2</math></b>	<b><math>\mu \text{ exp} = \mu^*1,96</math></b>
<b>0,001</b>	0,100	0,125	0,245
<b>0,010</b>	1,000	0,137	0,268
<b>0,014</b>	0,700	0,162	0,317

**Tabla 5.60 Incertidumbre Expandida del Chlorpyrifos(Dursban) en la preparación de las soluciones fortificadas**

<b>CONCENTRACION (ppm)</b>	<b>V1 = ml TOMADOS DEL ESTANDAR</b>	<b><math>\mu C2</math></b>	<b><math>\mu \text{ exp} = \mu^*1,96</math></b>
<b>0,001</b>	0,100	0,125	0,245
<b>0,010</b>	1,000	0,137	0,268
<b>0,014</b>	0,700	0,162	0,317

**Tabla 5.61 Incertidumbre Expandida del Stirofos (Tetrachlorvinphos) en la preparación de las soluciones fortificadas**

<b>CONCENTRACION</b>	<b>V1 = ml TOMADOS DEL ESTANDAR</b>	<b><math>\mu C2</math></b>	<b><math>\mu \text{ exp} = \mu^*1,96</math></b>
<b>0,001</b>	0,100	0,125	0,245
<b>0,010</b>	1,000	0,137	0,268
<b>0,014</b>	0,700	0,162	0,318

**Tabla 5.62 Incertidumbre Expandida del Disulfoton Sulfon en la preparación de las soluciones fortificadas**

<b>CONCENTRACION</b>	<b>V1 = ml</b>	<b><math>\mu C2</math></b>	<b><math>\mu \text{ exp} = \mu^*1,96</math></b>
----------------------	----------------	----------------------------	---



(ppm)	TOMADOS DEL ESTANDAR		
<b>0,001</b>	0,100	0,125	0,245
<b>0,010</b>	1,000	0,137	0,268
<b>0,014</b>	0,700	0,162	0,317

- **Contribución de las Incertidumbres para el cálculo de la Incertidumbre Estándar**

Incertidumbre de soluciones estándar

Los valores obtenidos de  $\mu_{C_2}$  (ppm) de cada analito en la preparación de las soluciones estándar (tablas 5.35 a 5.41) serán los utilizados. Para el Dichlorvos (DDVP) con una concentración de referencia de 14ppm, se tiene:

$$\mu_c = \mu_{C_2} = 0,106$$

La tabla 5.63 a 5.69 presenta las contribuciones a incertidumbres de las soluciones estándar para cada analito con las tres concentraciones de referencia (1ppm, 10ppm, 14ppm)

**Tabla 5.63 Contribución a la Incertidumbre de la solución estándar de Dichlorvos (DDVP)**

<b>DDVP</b>	
<b>Concentración (ppm)</b>	<b><math>\mu_c</math></b>
<b>1,000</b>	0,025
<b>10,000</b>	0,060
<b>14,000</b>	0,106

**Tabla 5.64 Contribución de la Incertidumbre de la solución estándar de Mevinphos(Phosdrin)**

<b>Mevinphos(Phosdrin)</b>	
<b>Concentración (ppm)</b>	<b><math>\mu_c</math></b>
<b>1,000</b>	0,025
<b>10,000</b>	0,060
<b>14,000</b>	0,105

**Tabla 5.65 Contribución a la Incertidumbre de la solución estándar de Ethoprophos**

<b>Ethoprophos</b>	
<b>Concentración (ppm)</b>	<b><math>\mu_c</math></b>
<b>1,000</b>	0,025
<b>10,000</b>	0,060
<b>14,000</b>	0,105

**Tabla 5.66 Contribución a la Incertidumbre de la solución estándar de Paraoxon(Parathion)**

<b>Paraoxon(Parathion)</b>	
<b>Concentración (ppm)</b>	<b><math>\mu_c</math></b>
<b>1,000</b>	0,025
<b>10,000</b>	0,061
<b>14,000</b>	0,106

**Tabla 5.67 Contribución a la Incertidumbre de la solución estándar de Chlorpyrifos(Dursban)**

<b>Chlorpyrifos(Dursban)</b>	
<b>Concentración (ppm)</b>	<b><math>\mu_c</math></b>
<b>1,000</b>	0,025
<b>10,000</b>	0,060
<b>14,000</b>	0,105

**Tabla 5.68 Contribución a la Incertidumbre estándar de Stirofos (Tetrachlorvinphos)**

<b>Stirofos (Tetrachlorvinphos)</b>	
<b>Concentración (ppm)</b>	<b><math>\mu_c</math></b>
<b>1,000</b>	0,025
<b>10,000</b>	0,061
<b>14,000</b>	0,106

**Tabla 5.69 Contribución a la Incertidumbre estándar de Disulfoton Sulfon**

<b>Disulfoton Sulfon</b>	
<b>Concentración (ppm)</b>	<b><math>\mu_c</math></b>
<b>1,000</b>	0,025
<b>10,000</b>	0,061
<b>14,000</b>	0,106

#### Incertidumbre de la Exactitud del Equipo

Para el cálculo de la incertidumbre de la exactitud del equipo se aplica la ecuación (36), tomando como ejemplo al compuesto Dichlorvos (DDVP) con un nivel de concentración de 14ppm, tenemos lo siguiente:

**Tabla5.70. Contribución a la Incertidumbre de la Exactitud del Equipo**

Media	9,066
Certificado(ppm)	14,000
Desv est(ppm)	0,221
media-certificado	-4,934
t (para 2 datos)	4,303
raíz 3	1,732
Desvet/raiz n	0,128
t *desvst/raiz n	0,549

media-certificado + t *desvst/raiz n	-4,385
en %	<b>-0,484</b>
Incertidumbre en exactitud del Equipo: (media-certificado + t *desvst/raiz n /media)/raíz (3)	-48,373

- **Incertidumbre Estándar**

Con los datos obtenidos, calculamos la incertidumbre estándar del Dichlorvos (DDVP). Reemplazando la ecuación (33) para una concentración de referencia de 14ppm, se obtiene:

$$\mu_e = \sqrt{(0,106)^2 + (-0,484/\sqrt{3})^2 + (0,120)^2 + (0,288)^2} = 0,391$$

La tabla 5.71 presenta las incertidumbres estándar para cada analito con las tres concentraciones de referencia (1ppm, 10ppm, 14ppm)

**Tabla 5.71 Incertidumbre Estándar de compuestos organofosforados**

Compuesto	Concentración(ppm)		
	1ppm	10ppm	14ppm
	$\mu_e$ (ppm)	$\mu_e$ (ppm)	$\mu_e$ (ppm)
Dichlorvos(DDVP)	0,133	1,204	0,405
Mevinphos(phosdrin)	0,362	2,371	0,941
Ethoprophos	0,451	0,670	0,431
Methylparaaxon(Parathion)	0,387	1,461	0,809
Chlorpyrifos(Dursban)	0,461	0,763	0,550
Stirofos(tetrachlorvinphos)	0,358	0,439	0,439
Disulfoton Sulfon	0,254	0,778	0,432

- **Incertidumbre Total Expandida Absoluta**

Para el cálculo de la incertidumbre total expandida absoluta  $\mu_{expABS}$  del Dichlorvos (DDVP), se emplea los datos de la tabla 5.71. Reemplazando la ecuación (34) para una concentración de referencia de 14ppm, se tiene:

$$\mu_{expABS} = 2 \times 0,405 = 0,809$$

La tabla 5.72 presenta las incertidumbres total expandida absoluta para cada analito con las tres concentraciones de referencia (1ppm, 10ppm, 14ppm)

**Tabla 5.72 Incertidumbre total expandida absoluta de compuestos órganofosforados**

Compuesto	Concentración(ppm)		
	1ppm	10ppm	14ppm
	$\mu_{expABS}$ (ppm)	$\mu_{expABS}$ (ppm)	$\mu_{expABS}$ (ppm)
Dichlorvos(DDVP)	0,267	2,407	0,809
Mevinphos(phosdrin)	0,724	4,743	1,882
Ethoprophos	0,903	1,339	0,863
Methylparaaxon(Parathion)	0,774	2,922	1,617
Chlorpyrifos(Dursban)	0,921	1,527	1,100
Stirofos(tetrachlorvinphos)	0,716	0,877	0,878
Disulfoton Sulfon	0,509	1,556	0,863

- **Incertidumbre total expandida relativa**

Para el cálculo de la incertidumbre total expandida relativa  $\% \mu_{expREL}$  del Dichlorvos (DDVP), empleamos los datos de la tabla 5.72, reemplazando la ecuación (35) para una concentración de referencia de 14ppm, se obtiene:

$$\% \mu_{expREL}(x) = \frac{0,809 \times 100}{14} = 5,781$$

La tabla 5.73 presenta las incertidumbres total expandida relativa para cada analito con las tres concentraciones de referencia (1ppm, 10ppm, 14ppm)

**Tabla 5.73 Incertidumbre total expandida relativa de compuestos órganofosforados**

Compuesto	Concentración(ppm)		
	1ppm	10ppm	14ppm
	$\% \mu_{expREL}$	$\% \mu_{expREL}$	$\% \mu_{expREL}$
Dichlorvos(DDVP)	26,685	24,074	5,781
Mevinphos(phosdrin)	72,405	47,426	13,442
Ethoprophos	90,266	13,395	6,163
Methylparaoxon(Parathion)	77,369	29,222	11,550
Chlorpyrifos(Dursban)	92,133	15,270	7,855
Stirofos(tetrachlorvinphos)	71,609	8,770	6,273
Disulfoton Sulfon	50,861	15,557	6,165

### 5.3.6 PORCENTAJE DE RECUPERACION

Al añadir concentraciones conocidas del Mix de pesticidas órganofosforados en muestras de agua y realizar todo el protocolo de análisis y cuantificación se procede a comparar con la concentración del estándar que se espera obtener en el extracto de esta muestra de agua que fue fortificada.

El Porcentaje de Recuperación se calcula con la fórmula (28) y tomando como ejemplo al compuesto Dichlorvos (DDVP) tenemos:

$$\%R = (0,0004)/0,001 * 100 = 49,7\%$$

En las siguientes tablas se muestra los porcentajes de recuperación de cada analito organofosforado con respecto a los estándares de 1ppm; 10 ppm y 14ppm:

**Tabla 5.74 Porcentajes de Recuperación con respecto al estándar de 1ppm**

ANALITO	%RECUPERACION
<b>Dichlorvos(DDVP)</b>	49,700
<b>Mevinphos(phosdrin)</b>	24,600
<b>Ethoprophos</b>	91,000
<b>Methylparaoxon(Parathion)</b>	43,800
<b>Chlorpyrifos(Dursban)</b>	77,600
<b>Stirofos(tetrachlorvinphos)</b>	66,300
<b>Disulfoton Sulfon</b>	67,900

**Tabla 5.75 Porcentajes de Recuperación con respecto al estándar de 10ppm**

ANALITO	%RECUPERACION
<b>Dichlorvos(DDVP)</b>	26,270
<b>Mevinphos(phosdrin)</b>	15,610
<b>Ethoprophos</b>	66,260
<b>Methylparaoxon(Parathion)</b>	24,520
<b>Chlorpyrifos(Dursban)</b>	47,450
<b>Stirofos(tetrachlorvinphos)</b>	9,970
<b>Disulfoton Sulfon</b>	42,170

**Tabla 5.76 Porcentajes de Recuperación con respecto al estándar de 14ppm**

ANALITO	%RECUPERACION
<b>Dichlorvos(DDVP)</b>	62,264
<b>Mevinphos(phosdrin)</b>	36,079
<b>Ethoprophos</b>	111,600
<b>Methylparaoxon(Parathion)</b>	55,843
<b>Chlorpyrifos(Dursban)</b>	80,786
<b>Stirofos(tetrachlorvinphos)</b>	4,736
<b>Disulfoton Sulfon</b>	76,829

### 5.3.7 Resultados Globales

La tabla 5.77 presenta todos los resultados globales por analito y totales de todos los cálculos realizados:

## 5.77 Resultados globales de cálculos

Dichlorvos(DDVP)								
ppm	Sr, ppm	cvr, %	SR, ppm	CVR, %	$\mu_e$	$\% \mu_{expREL}$	$\mu_{expABS}$ (ppm)	%Recuperación
1,000	0,015	1,830	0,015	1,770	0,133	26,685	0,267	49,700
10,000	0,134	4,466	0,140	4,343	1,204	24,074	2,407	26,270
14,000	0,109	1,240	0,120	1,320	0,405	5,781	0,809	62,264
GLOBAL	0,086	2,512	0,092	2,478	0,581	18,846	1,161	46,078
Mevinphos(phosdrin)								
ppm	Sr, ppm	cvr, %	SR, ppm	CVR, %	$\mu_e$	$\% \mu_{expREL}$	$\mu_{expABS}$ (ppm)	%Recuperación
1,000	0,004	0,556	0,004	0,547	0,362	72,405	0,724	24,600
10,000	0,047	2,539	0,048	2,438	2,371	47,426	4,743	15,610
14,000	0,066	1,241	0,086	1,570	0,941	13,442	1,882	36,079
GLOBAL	0,039	1,445	0,046	1,518	1,225	44,424	2,449	25,430
Ethoprophos								
ppm	Sr, ppm	cvr, %	SR, ppm	CVR, %	$\mu_e$	$\% \mu_{expREL}$	$\mu_{expABS}$ (ppm)	%Recuperación
1,000	0,056	3,641	0,056	3,530	0,451	90,266	0,903	91,000
10,000	0,231	3,506	0,500	6,854	0,670	13,395	1,339	66,260
14,000	0,203	1,272	0,227	1,391	0,431	6,163	0,863	111,600
GLOBAL	0,163	2,806	0,261	3,925	0,517	36,608	1,035	89,620
Methylparaoxon(Parathion)								
ppm	Sr, ppm	cvr, %	SR, ppm	CVR, %	$\mu_e$	$\% \mu_{expREL}$	$\mu_{expABS}$ (ppm)	%Recuperación
1,000	0,008	0,722	0,008	0,716	0,387	77,369	0,774	43,800
10,000	0,079	2,578	0,080	2,508	1,461	29,222	2,922	24,520
14,000	0,125	1,574	0,438	5,114	0,809	11,550	1,617	55,843
GLOBAL	0,071	1,625	0,175	2,779	0,885	39,381	1,771	41,388
Chlorpyrifos(Dursban)								
ppm	Sr, ppm	cvr, %	SR, ppm	CVR, %	$\mu_e$	$\% \mu_{expREL}$	$\mu_{expABS}$ (ppm)	%Recuperación
1,000	0,004	0,302	0,004	0,300	0,461	92,133	0,921	77,600
10,000	0,140	2,861	0,182	3,431	0,763	15,270	1,527	47,450
14,000	0,076	0,658	0,222	1,869	0,550	7,855	1,100	80,786
GLOBAL	0,073	1,274	0,136	1,867	0,591	38,419	1,183	68,612
Stirofos(tetrachlorvinphos)								
ppm	Sr, ppm	cvr, %	SR, ppm	CVR, %	$\mu_e$	$\% \mu_{expREL}$	$\mu_{expABS}$ (ppm)	%Recuperación
1,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,358	71,609	0,716	66,300
10,000	0,021	2,052	0,086	6,471	0,439	8,770	0,877	9,970



14,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,439	6,273	0,878	4,736
GLOBAL	0,007	0,684	0,029	2,157	0,412	28,884	0,824	27,002
<b>Disulfoton Sulfon</b>								
<b>ppm</b>	<b>Sr, ppm</b>	<b>cvr, %</b>	<b>SR, ppm</b>	<b>CVR, %</b>	<b><math>\mu_e</math></b>	<b><math>\% \mu_{expREL}</math></b>	<b><math>\mu_{expABS}</math> (ppm)</b>	<b>%Recuperación</b>
1,000	0,013	1,221	0,013	1,204	0,254	50,861	0,509	67,900
10,000	0,137	3,124	0,157	3,387	0,778	15,557	1,556	42,170
14,000	0,153	1,430	0,214	1,918	0,432	6,165	0,863	76,829
GLOBAL	0,101	1,925	0,128	2,170	0,488	24,194	0,976	62,300
<b>Resultados de Pesticidas Órganofosforados Totales</b>								
<b>ppm</b>	<b>Sr, ppm</b>	<b>cvr, %</b>	<b>SR, ppm</b>	<b>CVR, %</b>	<b><math>\mu_e</math></b>	<b><math>\% \mu_{expREL}</math></b>	<b><math>\mu_{expABS}</math> (ppm)</b>	<b>%Recuperación</b>
1	0,014	1,182	0,014	1,152	0,344	68,761	0,688	60,129
10	0,113	3,018	0,171	4,205	1,098	21,959	2,196	33,179
14	0,105	1,059	0,187	1,883	0,572	8,175	1,145	61,162
GLOBAL	0,077	1,753	0,124	2,413	0,671	32,965	1,343	51,490

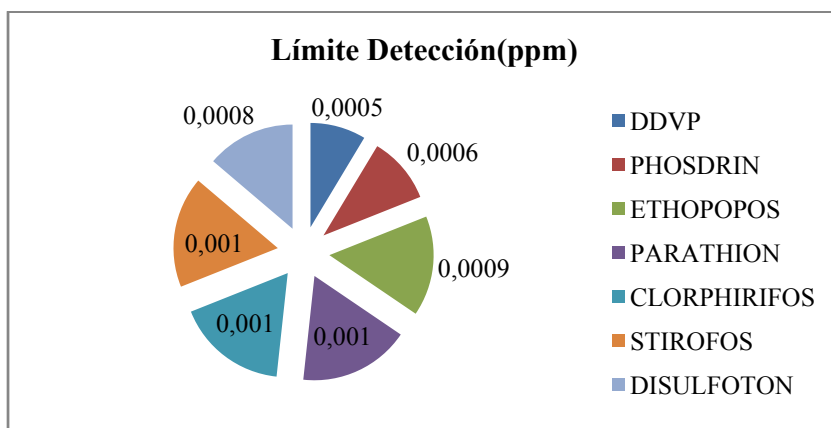
## CAPITULO VI

### DISCUSIÓN DE RESULTADOS

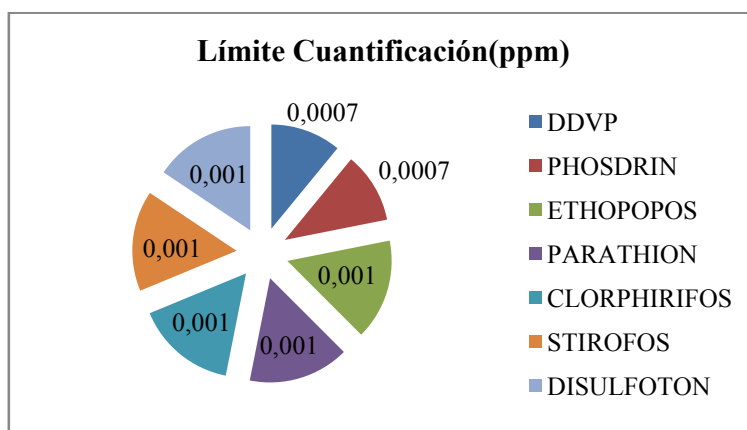
En el estudio de validación se ha contemplado 7 pesticidas órganofosforados tomando en cuenta la concentración al inyectar en el cromatógrafo y su capacidad de detectar bajas concentraciones.

- El coeficiente de correlación (tabla 5.28) que se obtuvo en el análisis está entre 0,882 y 0,941. Según el Documento para la Validación de Métodos Químicos de la FAO (*Food and Agricultural Organization*) se dice que los valores más óptimos están entre **0,995 iguales o superiores**, sin embargo para este tipo de análisis en concentraciones pequeñas se acepta valores más bajos siendo los obtenidos, valores bastante aceptables y demostrando así una correlación lineal entre las variables concentración calculada y teórica.
- Mediante el límite de detección (Tabla 5.33) se identificó la existencia de cada pesticida órganofosforado (Dichlorvos (DDVP), Mevinphos (phosdrin), Ethoprophos, Methylparaoxon (Parathion), Chlorpyrifos (Dursban), Stirofos (tetrachlorvinphos), Disulfoton Sulfon) en la muestra de agua fortificada.

**Figura6.1 Limite de Detección de Pesticidas Órganofosforados**



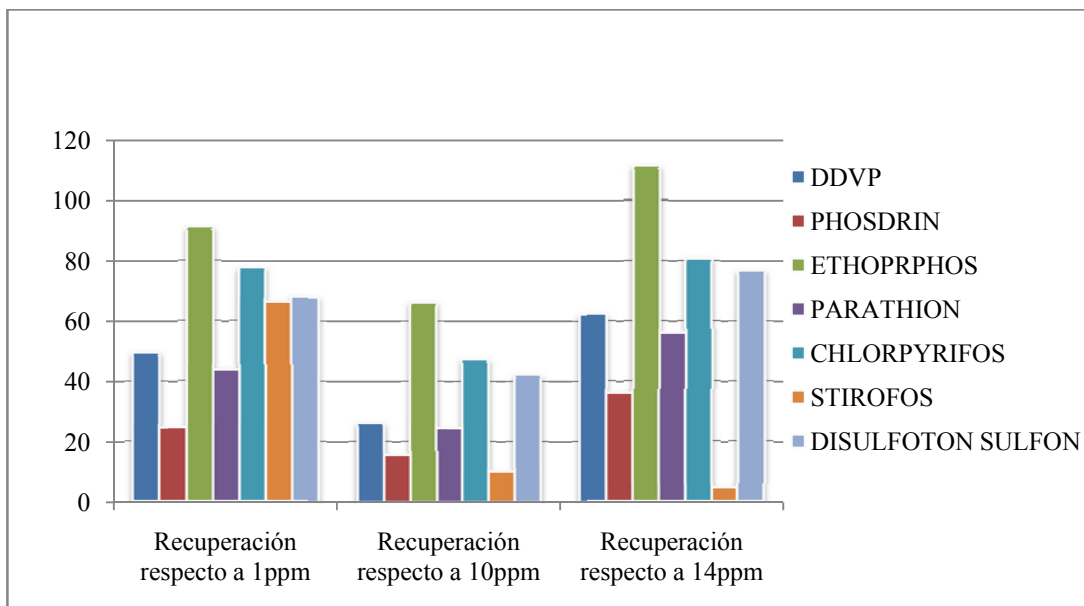
- Mediante el Límite de Cuantificación (Tabla 5.33) se determinó la concentración mínima que fue de 0,0007 ppm correspondiente al DDVP y Phosdrin.



**Figura6.3 Limite de Cuantificación de Pesticidas Órganofosforados**

- El intervalo de trabajo escogido fue 0,0009ppm a 0,020ppm, el valor inferior se determinó tomando en cuenta el límite de cuantificación promedio.

- El porcentaje de recuperación que se obtuvo fue de 25% a 90% sujeto a diversos factores como son el proceso de obtención del extracto donde innegablemente se pierde parte de la muestra en la extracción, filtrando y concentrado. Es por esto que no se obtuvo valores como los que se muestran en el **método EPA 614.1 que van de 90% a 101%(Anexo1)**.



**Figura6.3 Porcentaje de Recuperación**

## CAPITULO VII

### CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

#### 7.1 Conclusiones

- Se realizó curvas de calibración para los 7 pesticidas órganofosforados analizados, obteniendo ecuaciones respectivas para cada uno, las mismas que permitieron calcular la concentración para las mediciones realizadas. Se requirió de 4 puntos para esta calibración que corresponden a las concentraciones de 0,6ppm; 1ppm; 10ppm y 14ppm.
- Si bien hay otros métodos de extracción para muestras de agua, por la simplicidad, facilidad y disponibilidad de reactivos se escogió el método de extracción Líquido-Líquido usando como solventes el Hexano y el Diclorometano.
- Se presentaron dificultades en la identificación de los analitos tanto en las soluciones fortificadas como en las soluciones de calibración lo que afectó los porcentajes de recuperación y en general en todo el análisis estadístico. Los analitos que no se identificaron en los cromatogramas en algunos casos fueron el Stirofos y el Disulfoton Sulfón que dieron porcentajes de recuperación de 27% para el primero y 62% para el segundo, siendo mucho menores al presentado en el Método EPA 614.1.

- El análisis de correlación de datos realizado para obtener la Linealidad del Método determinó que el coeficiente de correlación va de 0,882 a 0,941 lo que indica que hay una correlación aceptable en los datos obtenidos según el parámetro aceptable de la FAO.
- El menor Coeficiente de Variación de Reproducibilidad fue el del Mevinphos (phosdrin) presentando un valor de 1,5% y el mayor fue el Ethoprofos con un valor de 3,9% estando dentro del rango establecido de  $\leq 5\%$  según el coeficiente de variación de reproducibilidad de herwitts.<sup>14</sup>
- El límite de detección permitió establecer la presencia de cada uno de los pesticidas órganofosforados analizados y el límite de cuantificación permitió determinar el valor inferior para el intervalo de trabajo que fue de 0,0009ppm.
- El intervalo de trabajo de 0,0009ppm a 0,020ppm , nos permite concluir que nuestro análisis estuvo bajo el parámetro de límite permisible de pesticidas órganofosforados totales en agua según el TULAS que es de 0,1ppm.
- La incertidumbre total expandida relativa del método presentó porcentajes para cada concentración (1ppm,10ppm;14ppm) entre: 1ppm ( $\pm$ ) 26%-92%, 10ppm ( $\pm$ ) 8%-47%, 14ppm ( $\pm$ ) 5%-13%. La mayor incertidumbre se da en la menor concentración de 1ppm porque esta es la que tiene mayor dificultad durante el proceso de cuantificación. El analito que presentó la menor incertidumbre total expandida relativa fue el Dichlorvos(DDVP) con un porcentaje de 18% mientras que el analito que presentó mayor incertidumbre fue el Mevinphos(phosdrin) con un 44%.

## 7.2 Recomendaciones

- Es recomendable practicar otros métodos de extracción que nos ayuden a tener menos error en la obtención del extracto, por ejemplo la extracción en Fase sólida es una muy buena opción ya que utiliza cartuchos de Florisil por donde pasara el líquido.
- Se debe tener material de vidrio exclusivo para el análisis a realizarse, así que no hay que dejar de tomar en cuenta el instructivo de limpieza de materiales, esto ayudara también a obtener un extracto con menos errores.
- Trabajar en un área exclusiva para el proceso de extracción de la muestra, la misma que debe ser ventilada adecuadamente con la presencia de campanas de extracción para evitar que se queden vapores de los solventes utilizados que puedan afectar al analista.
- Es recomendable que el analista utilice medidas de seguridad como son guantes, mascarillas, gafas protectoras durante el proceso de extracción de la muestra ya que se está trabajando con solventes tóxicos que pueden perjudicar a la salud.
- Se recomienda que el cromatógrafo este en un área exclusiva donde solo el analista tenga acceso para así evitar posibles contaminaciones en el equipo.
- Una vez validada la metodología de análisis de pesticidas organofosforados en agua para el Laboratorio de Medio Ambiente es recomendable extender la investigación y realizar análisis de pesticidas en muestras de agua procedentes de sitios que presenten contacto con este tipo de pesticida y así adquirir mayor experiencia en el análisis.
- Se sugiere ampliar el análisis para pesticidas organoclorados ya que también son un grupo de pesticidas muy importantes y además se consta en el Laboratorio de Medio Ambiente con los requerimientos necesarios tanto en materiales, reactivos, estándares como en equipos como el Cromatógrafo de Gases dotado con detector de captura de electrones(ECD) apropiado para este análisis.

## BIBLIOGRAFIA

1. Pesticidas, Salud y Ambiente, <http://www.iibce.edu.uy/posdata/drit.htm> , Consultado: Diciembre 2011.
2. Lección 22.Plaguicidas, <http://www.agua.uji.es/pdf/leccionHQ22.pdf> , Consultado: febrero 2011.
3. FAO, *Food and Agricultural Organization*” Organización de Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Consultado Febrero 2011
4. Toxicología Analítica de los Plaguicidas, J.S. Durand,P.Fernandez,R.M.Garcinuno. Consultado Enero 2011.
5. Plaguicidas: clasificación, uso, toxicología y medición de la exposición,Ramírez, J. A.\* y Lacasaña, M, <http://www.scsmt.cat/Upload/TextCompleto/2/1/216.pdf>, Consultado: Marzo 2011.
6. Toxicología y Química Legal .Plaguicidas. Universidad Nacional del la Plata-Argentina. Consultado Enero 2011.
7. Plaguicidas Órganofosforados Parte2.Ministerio de Trabajo y asuntos sociales de España. Institución Nacional de Higiene en el Trabajo. Consultado Diciembre 2010.
- 8.Operaciones básicas en el Laboratorio de Química. Tipos de Extracción. Universidad de Barcelona. Consultado Enero 2011.
9. Análisis de Pesticidas por Cromatografía de Gas. Olga Isabel Trujillo Ramírez. Edición 2006.Consultado Febrero 2011.
10. Analisis Instrumental. Skoog, Douglas A. y Leary, James J. (1994) Cromatografía de Gases BasicaMcNair, Harold M. & Miller, James M. (1998). Canada: John Wiley & Sons, Inc. Consultado Enero 2011



11. Cromatografía de Gases y sus Aplicaciones, Beth Alvarado, Octubre 2007.Consultado Marzo 2011

12. Validación de Métodos Analíticos. The Fitness for Purpose of Analytical Methods. A laboratory guide to method validation and related topics. Eurachem Guide, 1998 y OAA.DC-LE-05.Consultado Febrero 2011.

13.Guía para estimar la Incertidumbre de la Medición.Wolfgang A. Schmid y Ruben J. Lazos Martínez.Consultado Febrero 2011

14. Ensayos de Intercomparación-Proficiency. Consultoria de calidad y Laboratorio.Consultado Mayo 2011

# **ANEXOS**

## 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.

**Avicidas:** Sustancia (plaguicida) utilizada para eliminar pájaros.

**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.

**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.

**Nematicida:** Un nematicida es un tipo de pesticida químico para eliminar el parásito nematodo. Un nematicida común que se usa es del origen de la corteza 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.

## BIOGRAFÍA DE AUTOR

**Nombres:** María Belén

**Apellidos:** Jarrín Salas

**Lugar y Fecha de Nacimiento:** Quito, 1 de Febrero de 1987

### ▪ Estudios

**Primaria:** Centro Educativo “Paul Valery”

**Secundaria:** Pensionado Universitario

**Universitaria:** Escuela Politécnica del Ejército

### ▪ Certificaciones

- Curso de AUTOCAD en 2D en la Escuela Politécnica Nacional Facultad de Ingeniería Civil.
- Curso de ArcView 3.2 en la Unidad de Inteligencia Artificial y Sistemas de Información Geográfica de la Escuela Politécnica Nacional.
- III Congreso de Ciencia y Tecnología, ESPE 2008.
- IV Congreso de Ciencia y Tecnología, ESPE 2009.

### ▪ Distinciones

- Abanderada del Portaestandarte del Centro Educativo “Paul Valery” 1998.
- Beca al Mejor Promedio Pensionado Universitario 2000.
- Abanderada del Portaestandarte del Colegio Pensionado Universitario 2004.

## **HOJA DE LEGALIZACIÓN DE FIRMAS**

**ELABORADO POR**

---

MARÍA BELÉN JARRÍN SALAS

**COORDINADOR DE LA CARRERA**

---

ING.FRANCISCO LEÓN

**DELEGADO UNIDAD DE ADMISIÓN Y REGISTRO**

---

DR.MARCELO MEJÍA

Sangolquí, 2 de Junio de 2011