

**EVALUACIÓN DEL GRADO DE CONTAMINACIÓN POR PLAGUICIDAS
ORGANOFOSFORADOS EN CULTIVOS DE CEBOLLA (*Allium fistulosum*) EN
SUELO Y AGUA DE ESCORRENTÍA EN EL CORREGIMIENTO DE LA
FLORIDA DE LA CIUDAD DE PEREIRA**

**MÓNICA RUBIO CÁRDENAS
ALEJANDRO VALLEJO REYES**

**UNIVERSIDAD TECNOLÓGICA DE PEREIRA
FACULTAD DE TECNOLOGÍA
ESCUELA DE QUÍMICA
PEREIRA
2014**

**EVALUACIÓN DEL GRADO DE CONTAMINACIÓN POR PLAGUICIDAS
ORGANOFOSFORADOS EN CULTIVOS DE CEBOLLA (*Allium fistulosum*) EN
SUELO Y AGUA DE ESCORRENTÍA EN EL CORREGIMIENTO DE LA
FLORIDA DE LA CIUDAD DE PEREIRA**

MÓNICA RUBIO CÁRDENAS

ALEJANDRO VALLEJO REYES

**Trabajo de grado presentado como requisito para optar al título de Químico
Industrial**

Director:

Juan Pablo Arrubla Vélez

Qco. MSc. PhD c

UNIVERSIDAD TECNOLÓGICA DE PEREIRA

FACULTAD DE TECNOLOGÍA

ESCUELA DE QUÍMICA

PEREIRA

2014

NOTA DE ACEPTACIÓN DEL TRABAJO DE GRADO
EVALUACIÓN DEL GRADO DE CONTAMINACIÓN POR PLAGUICIDAS
ORGANOFOSFORADOS EN CULTIVOS DE CEBOLLA (*Allium fistulosum*) EN
SUELO Y AGUA DE ESCORRENTÍA EN EL CORREGIMIENTO DE LA
FLORIDA DE LA CIUDAD DE PEREIRA

Presentado por:

MÓNICA RUBIO CÁRDENAS

ALEJANDRO VALLEJO REYES

Los suscritos director y jurado del presente trabajo de grado, una vez revisada la versión escrita y presenciado la sustentación oral, decidimos otorgar:

La nota de: _____

Con la connotación: _____

Para constancia firmamos en la ciudad de Pereira hoy:

Director:

Juan Pablo Arrubla Vélez _____

Jurado:

Firma _____

Jurado:

Firma _____

AGRADECIMIENTOS

Queremos agradecer a todas aquellas personas que con su ayuda han colaborado en la realización de este proyecto, en especial a nuestras familias y amigos por la motivación, comprensión, ánimo, paciencia y todo el apoyo brindado para hacer posible una de nuestras metas más importantes: Obtener el título de Químico Industrial

Especial agradecimiento a nuestro director Juan Pablo Arrubla, por la orientación, el seguimiento y la supervisión de este proyecto, pero sobre todo por la motivación y el apoyo recibido durante todo este proceso.

También agradecemos a la Vicerrectoría de Investigaciones, innovación y extensión por la financiación de nuestro trabajo.

CONTENIDO

	Página
1. INTRODUCCIÓN	11
2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	13
3. JUSTIFICACIÓN	15
4. OBJETIVOS	16
4.1. OBJETIVO GENERAL	16
4.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	16
5. MARCO TEÓRICO	17
5.1. LA CEBOLLA	17
5.1.1. Cebolla de rama (<i>Allium fistulosum</i>)	17
5.1.2. Usos de la cebolla de rama	17
5.1.3. Manejo de plagas	17
5.2. MARCO GEOGRÁFICO	18
5.2.1. Ubicación de cultivos de cebolla	18
5.2.2. Localización de la finca Bella Vista	19
5.2.3. Condiciones climáticas de la región y prácticas culturales en cultivo de cebolla (<i>Allium fistulosum</i>)	20
5.3. PLAGUICIDAS	21
5.3.1. Tipos de plaguicidas	22
5.3.2. Rutas de transporte de los plaguicidas	24
5.3.3. Toxicología de los plaguicidas	25
5.4. LEGISLACIÓN PARA EL CONTROL DE PLAGUICIDAS	25
5.4.1. Legislación internacional	25
5.4.2. Legislación nacional	26

5.5. ANÁLISIS DE PLAGUICIDAS	27
5.5.1. Tipo de muestreo	27
5.5.2. Métodos de extracción	29
5.5.2.1. Extracción líquido - líquido continuo	29
5.5.2.2. Extracción sólido – líquido soxhlet	30
5.5.2.3. Extracción en fase sólida (Clean up)	30
5.5.3. Cromatografía de gases	31
5.5.3.1. Sistema de inyección	31
5.5.3.2. Fase móvil	32
5.5.3.3. Fase estacionaria	33
5.5.3.4. Columna	33
5.5.3.5. Detector	33
5.5.3.6. Curva de calibración	34
5.5.3.7. Registro de datos o sistema de datos	35
5.5.4. Estandarización del método	35
5.5.4.1. Repetitividad	35
5.5.4.2. Reproducibilidad	35
5.5.4.3. Linealidad y sensibilidad	35
5.5.4.4. Límite de detección (LOD)	36
5.5.4.5. Límite de cuantificación (LOQ)	36
5.5.4.6. Porcentaje de recuperación (% Rec)	36
6. METODOLOGÍA	37
6.1. TOMA DE MUESTRAS	37
6.2. PREPARACIÓN DE MUESTRAS	41
6.3. ESTÁNDAR Y REACTIVOS	41
6.4. ELABORACIÓN DE LA CURVA DE CALIBRACIÓN	42
6.5. METODOLOGÍA DE EXTRACCIÓN	43
6.5.1. Extracción líquido – líquido continuo	43
6.5.2. Extracción sólido – líquido soxhlet	43
6.5.3. Extracción en fase sólida o Clean up	45

6.6. ANÁLISIS CROMATOGRÁFICO	45
7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	47
7.1. ANÁLISIS CROMATOGRÁFICO DEL ESTÁNDAR	47
7.2. CURVA DE CALIBRACIÓN	48
7.3. TRATAMIENTO ESTADÍSTICO	49
7.4. PORCENTAJES DE RECUPERACIÓN	52
7.5. ANÁLISIS DE LAS MUESTRAS	55
8. CONCLUSIONES	63
9. RECOMENDACIONES	63
10. BIBLIOGRAFÍA	
64	
11. ANEXOS	71

ÍNDICE DE TABLAS

	Página
Tabla 1. Normatividad vigente para el control de plagas	26
Tabla 2. Características del estándar de plaguicidas organofosforados marca RESTEK 8140/8141	42
Tabla 3. Condiciones de calentamiento del cromatógrafo	46
Tabla 4. Tiempos de retención de los plaguicidas organofosforados	48
Tabla 5. Patrones para la curva de calibración de los plaguicidas organofosforados	49
Tabla 6. Resultados de desviación estándar, R^2 , LD y LC para cada uno de los compuestos	52
Tabla 7. Porcentajes de recuperación en agua de los compuestos analizados	53
Tabla 8. Porcentajes de recuperación en suelo de los compuestos analizados	54
Tabla 9. Concentración de plaguicidas en muestras reales de agua y suelo	59
Tabla 10. Resoluciones vigentes para control de plaguicidas en Colombia	71
Tabla 11. Porcentaje de recuperación en agua de los demás plaguicidas	87
Tabla 12. Porcentajes de recuperación en suelo de los demás plaguicidas	87
Tabla 13. Comparación de las áreas de los patrones y las muestras reales	88

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Mapa de uso del suelo en el corregimiento de La Florida. CARDER	19
Figura 2. Finca “Bella Vista”	19
Figura 3. Ácido fosfórico	22
Figura 4. Estructura básica de compuestos carbamatos	23
Figura 5. Ziram	23
Figura 6. Endosulfán	24
Figura 7. Rutas de transporte de los plaguicidas	24
Figura 8. Muestreo manual de agua	28
Figura 9. Muestreo automático de agua	28
Figura 10. Muestreo mixto de agua	29
Figura 11. Etapas de extracción en fase sólida	30
Figura 12. Esquema de un cromatógrafo de gases	32
Figura 13. Detector de captura electrónica	34
Figura 14. Diferenciación de las áreas de muestreo	37
Figura 15. Patrón de recorrido para extracción de las submuestras de suelo	38
Figura 16. Obtención de la muestra compuesta por cuarteo a partir de las submuestras desmenuzadas y mezcladas	38
Figura 17. Muestreo de suelo	39
Figura 18. Muestra de suelo recolectada para el análisis	39
Figura 19. Muestreo de agua	40

Figura 20. Recipientes para las muestras de agua	40
Figura 21. Muestra de agua recolectada para el análisis	41
Figura 22. Equipo de extracción líquido- líquido continuo	44
Figura 23. Equipo de extracción Soxhlet	44
Figura 24. Cromatograma de estándar a 200ppm de mezcla de plaguicidas organofosforados	47
Figura 25. Curvas de calibración para los plaguicidas presentes en el estándar	49
Figura 26. Cromatograma de la muestra real Agua 1	56
Figura 27. Cromatograma de la muestra real Agua 2	56
Figura 28. Cromatograma de la muestra real Suelo 1	57
Figura 29. Cromatograma de la muestra real Suelo 2	58
Figura 30. Curva de calibración para los diferentes plaguicidas	59

1. INTRODUCCIÓN

En Colombia los climas fríos y medios cubren la mayor parte de las zonas productoras de hortalizas en el país, aunque se desarrollan en condiciones muy diversas de clima, suelo e infraestructura y en el proceso productivo intervienen diferentes tipos de productores. Las principales zonas productoras se encuentran ubicadas en los departamentos de Cundinamarca, Boyacá, Caldas, Antioquia, Cesar, Cauca, Valle, Tolima, Risaralda, Nariño, Huila, Guajira y Magdalena [1].

La cuenca del río Otún abarca una superficie de 480,61 km². Está localizada en el flanco occidental de la Cordillera Central, en el departamento de Risaralda, y comprende los municipios de Pereira, Santa Rosa de Cabal, Dosquebradas y Marsella [1].

En la cuenca media alta, en el corregimiento de La Florida, se cultivan renglones como tomate, cebolla de rama, zanahoria, cilantro, repollo, lechuga; con una extensión de 1694 hectáreas, de las cuales 438 se hallan dedicadas a la explotación de cebolla de rama, con una producción de 41754 toneladas anuales [1].

La cebolla de rama es una planta hortícola que contiene esencias volátiles sulfurosas que le confieren el sabor picante característico, muy usado como condimento para los alimentos [2-4]. El cultivo de la cebolla (*Allium fistulosum* L.) en Colombia ha tenido una gran importancia con el paso de los años debido a que existe una gran demanda de este producto a nivel nacional por sus cualidades nutritivas, principalmente en su contenido de vitamina A, vitamina B, vitamina C, Fósforo, Calcio, proteínas y fibra vegetal, además de los diversos usos que se le ha ido dando en diferentes partes del mismo [5].

Los principales limitantes agronómicos del cultivo es la falta de recomendaciones de manejo como fertilización del cultivo, por lo cual los niveles de producción no han alcanzado su máximo tope. Esta hortaliza se caracteriza por su alta rentabilidad económica ya sea en cultivos extensivos o en cultivos pequeños y por adaptarse a climas fríos como en climas templados [5].

La agricultura se beneficia de la aplicación extensiva de plaguicidas debido a que disminuye la pérdida de cultivos y aumenta la producción. Al igual que en la mayor parte del país, la agricultura en el departamento de Risaralda, en el corregimiento de La Florida, involucra el uso de diversos plaguicidas para el control de plagas y

enfermedades como lo son el huevo de la mosca blanca, escarabajo de la cebolla (*Lylyoderys merdigera*), mosca de la cebolla (*Hylemia antigua*), polilla de la cebolla (*Acropelia assectella*) [6]. Uno de los grupos más usados para el control de plagas es el de los compuestos organofosforados, el cual abarca plaguicidas como el Dichlorvos, Mevinphos, Chlorpyrifos, Demeton, Bolstar, Azinphos Methyl, Bolstar, entre otros. Es un hecho, que estos plaguicidas constituyen un grupo de contaminantes que afectan el ecosistema, y en la actualidad, existe una verdadera preocupación por los efectos nocivos derivados de la utilización de los plaguicidas en la agricultura, y se hace fundamental el control de ellos en el medio ambiente [7].

En Colombia, el diagnóstico la vigilancia y el monitoreo de plaguicidas aún no se ha implementado de forma eficaz, y existe una tendencia fuerte de los agricultores a usar plaguicidas en forma excesiva por motivaciones económicas [7]. De aquí, nace el interés por realizar un estudio que permita conocer las concentraciones de aplicación de plaguicidas en los cultivos de cebolla, en el corregimiento de la Florida, y así, evaluar el grado de contaminación generado por estos en el suelo y aguas de escorrentía en la cuenca del río Otún, principal fuente abastecedora de agua en Pereira.

La cuenca del río Otún, localizada en el corregimiento de la Florida (Risaralda, Colombia), cuenta con una gran variedad de estudios liderados por la Carder, la entidad prestadora de servicios de acueducto y alcantarillado S.A., Aguas y Aguas, las universidades locales, especialmente la Universidad Tecnológica de Pereira, UTP y la Corporación Universitaria de Santa Rosa de Cabal, UNISARC, entre otras instituciones [8].

En el estudio realizado en el presente trabajo se describe el proceso para la determinación de la presencia de los plaguicidas organofosforados aplicados en los cultivos de cebolla de la finca “Bella Vista”, ubicada aproximadamente a 1.5Km del corregimiento de la Florida y a 200m del río Otún. Para ello, se propone un método para el análisis de muestras de agua y de suelo, mediante la técnica de cromatografía de gases con detector de captura electrónica (ECD).

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El crecimiento demográfico ha incrementado la necesidad de producir mayor cantidad de alimentos en plazos más cortos, por lo que los productores se han visto en la necesidad de buscar métodos que aumenten el rendimiento de su producción y permitan evitar pérdidas. Actualmente, para satisfacer la demanda de producción, los agricultores requieren implementar métodos de prevención y emergencia contra plagas que pudiesen afectar su rendimiento, una de estas técnicas es el uso de plaguicidas.

Los plaguicidas son liberados al ambiente en grandes cantidades, sin que se conozca su verdadero efecto tóxico. En la actualidad no es posible una agricultura con altos rendimientos sin la utilización de compuestos químicos que brinden medidas de protección a las plantas. Hoy se concibe el uso de los plaguicidas enmarcados dentro de un manejo integrado de plagas, enfermedades y malezas, lo que obliga a conocer profundamente las propiedades de estos compuestos, sus residuos en los cultivos, suelo y agua, así como sus aspectos toxicológicos [9].

Es importante comprender que al aplicar cualquier plaguicida se inicia un proceso de interacción entre éste y el medio, hasta que termina su efecto y desaparece. Esta interacción comprende la atmósfera, suelo, agua y plantas. Algunos plaguicidas según su estructura y características fisicoquímicas persisten en el ambiente, propiciando con ello la acumulación en agua y suelo principalmente, subiendo después por la cadena trófica y llegando hasta los seres humanos [10].

Entre los principales problemas que causan el uso excesivo de estos plaguicidas se puede mencionar la bioacumulación, la resistencia por parte de las plagas y problemas de salud al ser humano como intoxicaciones agudas o efectos crónicos que pueden conllevar a enfermedades como cáncer, daños en los pulmones, malformaciones en fetos, lesiones al hígado entre otros.

Los compuestos organofosforados están diseñados especialmente para perturbar los niveles de la acetilcolinesterasa (ACE) de los organismos que ataca, teniendo este mismo efecto en humanos. Estos compuestos afectan el crecimiento neuronal y la transmisión de estímulos eléctricos. Dependiendo del plaguicida, los efectos en la salud van desde intoxicaciones agudas hasta crónicas. Estos plaguicidas son liposolubles lo que facilita su absorción debido a que atraviesan fácilmente barreras biológicas (piel, mucosa, pulmones tracto gastrointestinal y ojos), e

igualmente penetran en el sistema nervioso central, además son compuestos volátiles, facilitando la absorción inhalatoria [11].

Dichos plaguicidas pueden generar un riesgo potencial sobre el ecosistema y eventualmente sobre los alimentos, suelo y suministro de agua del municipio de Pereira causado por los efluentes desde el corregimiento la Florida del departamento de Risaralda [14-15].

3. JUSTIFICACIÓN

Durante mucho tiempo, los plaguicidas utilizados para el control de plagas han sido los denominados de segunda generación. El abuso de ellos, ha llegado a causar graves daños al medio ambiente y problemas de salud al hombre, tanto al que consume los alimentos tratados como al que los aplica a sus cultivos.

Existen estudios, donde se detectan plaguicidas residuales en muestras de suelo, agua, alimentos, fluidos biológicos y tejidos. En alimentos se han encontrado diferentes plaguicidas en granos de cereales, nopal, camarón, aceites vegetales, tomate, uva, entre otros [10].

En la Escuela de Química de la Universidad Tecnológica de Pereira, se han realizado trabajos de investigación, que abordan transversalmente el grado de contaminación en el río Otún, por plaguicidas organofosforados [12], así como desarrollo de técnicas analíticas para la cuantificación de plaguicidas organoclorados y organofosforados en suelos por medio de la Cromatografía de gases con detectores FID y ECD [13], proyectos que se trabajan en la línea de investigación contaminantes emergentes en el agua [8].

Se genera entonces, la necesidad de ampliar y continuar con los estudios realizados en la Universidad Tecnológica de Pereira, UTP, y el interés para estudiar la presencia y determinar la concentración de los plaguicidas organofosforados en agua de escorrentía y suelos de los cultivos de cebolla en el corregimiento de la Florida, todo esto, a través del semillero de cromatografía, adscrito a la Escuela de Tecnología Química de la Universidad Tecnológica de Pereira.

En el presente trabajo se analizará la presencia de los plaguicidas Diclorvos, Mevinphos, Demeton O & S, Ethoprophos, Naled, Phorate, Diazinon, Disulfoton, Methyl parathion, Fenclorphos, Fention, Chlorpyrifos, Trichloronate, Merphos, Stirofos, Tokuthion, Fensulfothion, Bolstar (Sulprofos), Azinphos methyl y Coumaphos, generados por la fumigación en los cultivos de cebolla (*Allium Fistulosum*), los cuales están muy cercanos del río Otún, principal fuente de abastecimiento de agua de la ciudad de Pereira.

4. OBJETIVOS

4.1. OBJETIVO GENERAL

Evaluar el grado de contaminación por plaguicidas organofosforados en cultivos de cebolla (*Allium fistulosum*) en suelo y agua de escorrentía en el corregimiento de la Florida de la ciudad de Pereira.

4.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Evaluar las técnicas de extracción sólido-líquido Soxhlet y extracción líquido-líquido continuo para el análisis de compuestos organofosforados de muestras de suelo y aguas de escorrentía del sector de la Florida.
- Evaluar el método de cromatografía de gases con detector ECD para cualificación y cuantificación de plaguicidas organofosforados.
- Verificar la presencia de plaguicidas organofosforados en suelos y agua de escorrentía en cultivos de cebolla del corregimiento la Florida y el riesgo que representa sobre el ecosistema local.

5. MARCO TEÓRICO

5.1. LA CEBOLLA

5.1.1. Cebolla de rama (*Allium fistulosum*)

Dentro de la familia Liliaceae, la especie *Allium fistulosum* L; conocida como cebolla de rama, cebolla blanca o cebolla junca, es una planta hortícola con raíz bulbosa, la cual contiene esencias volátiles sulfurosas que le confieren el sabor picante característico. La cebolla junca es apetecida por su pseudotallo largo, jugoso y picante. Su período de producción, desde que es sembrada hasta que esta lista para su consumo es de 60 – 90 días aproximadamente [2-4].

En Colombia, la cebolla de rama es llamada comúnmente cebolla blanca o cebolla larga, es una especie del género *Allium* de las cebollas, su principal característica es que es perenne y nunca forma bulbos. Fue introducida en Colombia por los españoles, y en China y Japón fue el principal cultivo de *Allium*, donde por más de 2.000 años ha sido de gran importancia [16].

En el páramo de Colombia se encuentra la mejor producción de cebolla de rama y la de mayor calidad. El cultivo de cebolla de rama es un cultivo perenne, es decir, que es un cultivo permanente y tiene una cosecha durante todo el año. A pesar de que se adapta a todos los climas, la cebolla de rama requiere buenas cantidades de agua, y, es de vital importancia disponer de agua de riego para generar una producción de buena calidad y constante [16].

5.1.2. Usos de la cebolla de rama

Tradicionalmente, la cebolla de rama es usada por su olor y sabor picante como condimento para comidas, estas características se las confieren sus compuestos azufrados, los cuales se encuentran en forma de aminoácidos no proteicos [16].

Para evitar las dificultades que se presentan al manejar grandes cantidades de producto fresco, se hace uso de los aceites concentrados de la cebolla, usados principalmente para dar aroma y sabor a los alimentos procesados. Gracias a su alto porcentaje en materia seca, se hace ideal el deshidratar la cebolla y de esta manera, elaborar una serie de productos de uso culinario [16].

5.1.3. Manejo de plagas

En el cultivo de cebolla de rama existen dos grupos de plagas, estos son las plagas del follaje y las plagas del suelo. Entre las plagas del suelo se encuentran las chisas, los trozadores y tierreros, babosas y caracoles y mosca de la raíz de la cebolla. En cuanto a las plagas del follaje se encuentran Trips y Minador de la cebolla [16].

Tanto para las plagas del suelo, como para las plagas del follaje, el manejo se hace controlando la humedad del suelo, controlando las arvenses o malezas, recolectando y eliminando los residuos de cosecha. Si el número de insectos lo justifica, es importante también realizar un control químico, con el uso de plaguicidas tales como el Diazinon y el Dimetoato [16].

5.2. MARCO GEOGRÁFICO

5.2.1. Ubicación de cultivos de cebolla

En Colombia, las principales zonas productoras de cebolla junca (*Allium Fistulosum*) se encuentran en los departamentos de Cundinamarca, Boyacá, Caldas, Risaralda, César, Tolima, entre otros. Los climas fríos y medios cubren la mayor parte de las zonas productoras de hortalizas en el país, aunque se desarrollan en condiciones muy diversas de clima, suelo e infraestructura [16].

Los cultivos de cebolla (*Allium fistulosum*) están ubicados macro-regionalmente en el noroccidente Colombiano y se proyecta estratégicamente en la Eco-región Eje Cafetero. Su localización se encuentra en el flanco occidental de la Cordillera Central en el Departamento de Risaralda, entre el rango altitudinal de los 1750 a los 2250 msnm, más exactamente en la vertiente izquierda de la cuenca media del Río Otún, corregimiento La Florida, municipio de Pereira [16].

El corregimiento de la Florida se encuentra ubicado en la cuenca media del río Otún en el sector nor-oriental de Pereira. Limita al Norte con el río Otún, al Sur con el municipio de Salento (Quindío), y lo corregimientos de Tribunias y la Bella, al Occidente con el área urbana de la Ciudad de Pereira y al Oriente con el departamento del Tolima. En el **Figura 1** se puede observar el mapa del corregimiento de la Florida.

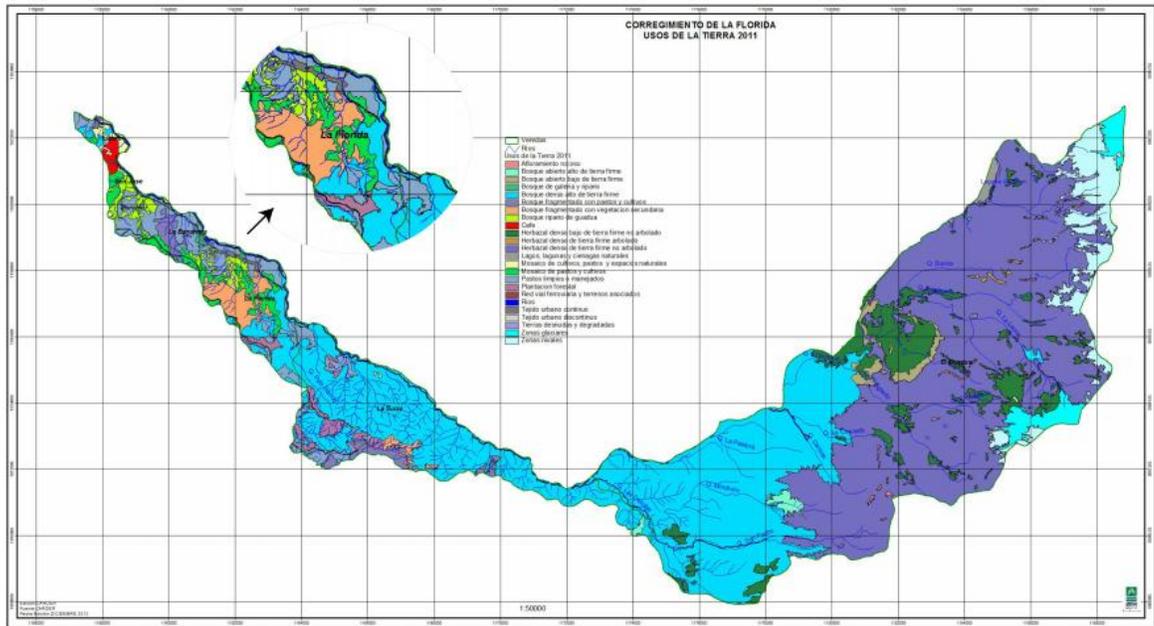


Figura 1. Mapa de usos del suelo en el corregimiento de la Florida.

Mapa proporcionado por la Corporación Autónoma Regional de Risaralda. Disponible en: www.carder.gov.co

5.2.2. Localización de la finca Bella Vista



Figura 2. Finca “Bella Vista” en el corregimiento de la Florida.

Fotografía por Alejandro Vallejo Reyes.

La finca “Bella vista” fue la finca seleccionada para realizar el estudio del presente trabajo, ya que es una de las fincas con mayor área cultivada de cebolla larga (*Allium Fistulosum*), presentando así un mayor volumen de aplicación de plaguicidas, y además, es cercana al río Otún. La finca está ubicada a aproximadamente 1.5Km del corregimiento la Florida cuenta con uno de los mayores cultivos de cebolla de la región, el cual se encuentra localizado aproximadamente a 100-200m del río Otún, y posee un terreno que varía sus grados de inclinación entre 20-40°.

5.2.3. Condiciones climáticas de la región y prácticas culturales en cultivo de cebolla (*Allium fistulosum*)

Los cultivos de cebolla son principalmente de clima frío húmedo, con una temperatura media anual de 16,8°C y una precipitación media anual promedio de 2638.5 mm. Predomina el relieve montañoso con suelos formados en su gran mayoría a partir de cenizas volcánicas y otros materiales piroclásticos, posee un sistema de drenajes representado en cinco micro cuencas (La Mula, La Hacienda, La Suiza, Corozal y Palo Blanco) que “nacen y mueren” en el mismo Santuario, compuesto por quebradas y arroyos que le tributan sus aguas al Río Otún, con un caudal de aproximadamente 124.29 L/s [17].

La mayoría de las labores productivas se hacen manualmente. El morfotipo más usado es la cebolla larga (*Allium fistulosum*), aunque también se reconocen otros como pasteluna, veleña y pastusa. Las plantaciones se establecen a favor de la pendiente en cualquier época del año pero con preferencia por la época seca [17].

La gallinaza cruda es la principal forma de fertilización, combinada con fertilización química, sin tomar en cuenta los requerimientos del suelo. El control de arvenses o malezas, plagas y enfermedades se hace mediante el uso de plaguicidas, se fumiga una vez a la semana, utilizando uno de los plaguicidas anteriormente mencionados en forma de coctel con fertilizantes y hormonas de crecimiento [17-18].

En algunas ocasiones se cambia el plaguicida para garantizar que la plaga no genere resistencia a éste. La aspersion de los insecticidas se realiza en las hojas y en la raíz de los cultivos (inyectado), y la solución que se rocía al cultivo es una mezcla de 1Kg de plaguicida en caso de sólidos por cada 200L de solución, y de 200mL a 500mL de plaguicidas en caso de líquidos por cada 200L de solución.

El uso de plaguicidas es el método más conocido y usado por los productores para el control de plagas, las casas agroquímicas ofrecen asesoría acerca de esto y básicamente, no se conocen otras formas de optimización de insumos como la producción limpia [18].

La mayoría de productores no tiene conocimiento de insectos o plantas benéficas que puedan ayudar a la producción limpia, y el manejo actual puede estar generando impactos de tipo ambiental que, según CARDER-PNN (2008), deberían ser dimensionados y manejados sin afectar las condiciones socio-económicas de la región, toda vez que la cebolla es el eje económico de la población en la cuenca media - alta del río Otún [17].

5.3. PLAGUICIDAS

Los plaguicidas son compuestos químicos que permiten combatir insectos, hongos, plantas y especies no deseadas en los diferentes cultivos, ganado, animales domésticos, del hombre y su ambiente. Según su actividad biológica, los plaguicidas pueden clasificarse en insecticidas, fungicidas, herbicidas, nematicidas, esto depende si su toxicidad es específica para insectos, plantas o nematodos. También existen los atrayentes, repelentes y esterilizantes de insectos que coadyuvan a su destrucción por medio de estas acciones [18].

Se clasifican en inorgánicos y orgánicos dependiendo de su naturaleza química. Los plaguicidas inorgánicos no presentan una problemática importante desde el punto de vista de su toxicidad y evolución en el suelo. Y los orgánicos que presentan un mayor riesgo debido a su persistencia en el ambiente y su evolución en el complejo sistema del suelo [18].

Los plaguicidas deben ser efectivos contra la destrucción de la plaga, deben combatir únicamente la plaga sin perjudicar la flora o fauna, deben ser económicos, el uso de ellos no debe constituir un peligro para la salud del ser humano y es importante que conserve su capacidad de acción durante un tiempo suficiente [18].

A pesar de la selectividad, estabilidad y seguridad de los plaguicidas, muchos de estos compuestos orgánicos no han cumplido con estas condiciones, y han sido tan estables que han originado una gran contaminación ambiental, al encontrarse residuos de estos plaguicidas en suelo, agua y aire cerca de los lugares de su uso.

Además muchos de estos plaguicidas pueden atacar no solo a las plagas para las que supuestamente son selectivos, sino también pueden representar un riesgo para la salud del ser humano, y es de gran importancia el estudio de la persistencia e interacción de estos compuestos con el ambiente, con el fin de conocer el problema y poder emplear medios para reducirlos [18].

5.3.1. Tipos de plaguicidas

Compuestos organofosforados

Se denominan compuestos organofosforados a aquellas sustancias orgánicas derivadas de la estructura química del ácido fosfórico (**Figura 3**), tienen su origen en las investigaciones que se realizaron sobre los gases neurotóxicos, y existen diferentes tipos, según los constituyentes que acompañen al fósforo, entre ellos los tiofosfatos, tiofosfatos, fosfonatos y ditiofosfatos. Este tipo de compuestos es usado principalmente para combatir insectos adultos y parásitos de plantas y animales [20].

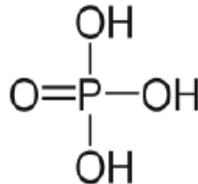


Figura 3. Ácido fosfórico

Compuestos carbamatos

Los plaguicidas carbamatos son ésteres derivados del ácido carbámico. Éstos comparten con los organofosforados la capacidad de inhibir las enzimas colinesterásicas y por lo tanto comparten una sintomatología similar durante las exposiciones agudas y crónicas. Comprende más de 25 compuestos que se emplean como insecticidas y algunos como fungicidas, nematocidas o herbicidas [19].

La estructura básica de los carbamatos es la siguiente:

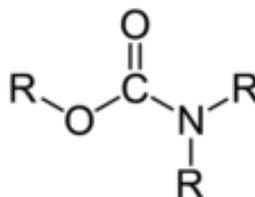


Figura 4. Estructura básica de los carbamatos

Compuestos ditiocarbamatos:

Los compuestos ditiocarbamatos presentan propiedades fungicidas, a diferencia de los carbamatos que presentan un mayor uso tanto como insecticidas, herbicidas y nematocidas. Componen una serie de sustancias que tienen una estructura química relacionada con la de los insecticidas y herbicidas carbamatos donde el átomo de oxígeno y el átomo de nitrógeno son sustituidos por átomos de azufre. Varios de ellos contienen en su estructura química un metal (hierro, zinc, manganeso) [20].

Un ejemplo de los ditiocarbamatos es el dimetil-ditiocarbamato de zinc conocido normalmente como el plaguicida Ziram, su estructura química es:

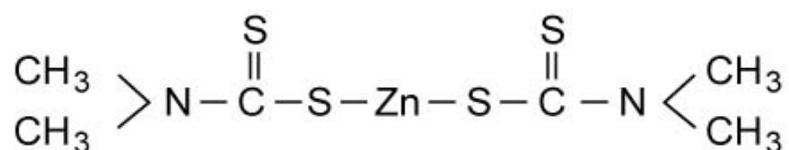


Figura 5. Ziram

Compuestos organoclorados:

Este tipo de compuestos se caracterizan por que presentan en su estructura una gran cantidad de cloro. A diferencia de los plaguicidas organofosforados y carbamatos no son derivados de una estructura en común, los miembros de cada grupo de estos, comparten composiciones similares y pueden tener estructuras y

formas tridimensionales muy diferentes. Constituyen un numeroso grupo de compuestos de origen sintético cuyo uso como insecticidas comenzó en 1940. Los pesticidas organoclorados más comunes son el Endosulfán (**Figura 4**), Aldrin, Dieldrin y Lindano [20].

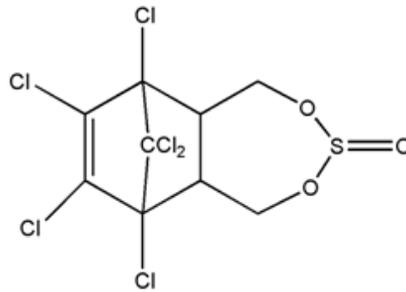


Figura 6. Endosulfán

5.3.2. Rutas de transporte de los plaguicidas

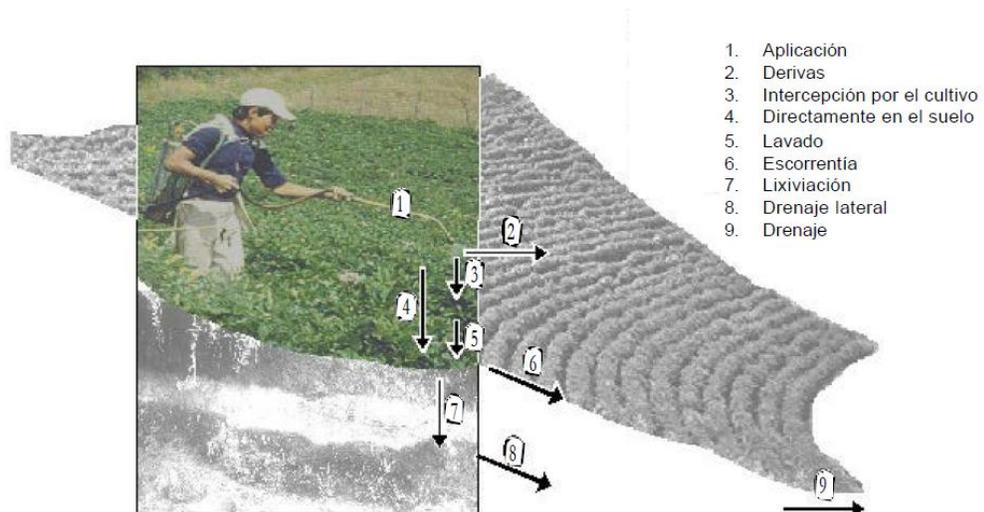


Figura 7. Rutas de transporte de los plaguicidas [19].

En la **Figura 7** se observan las diferentes rutas de transporte de los plaguicidas, en la parte superior derecha se observan el paso correspondiente a cada número de la figura. En la agricultura en los países tropicales es común el uso de las mochilas aspersoras (1), las cuales son útiles a la hora de aplicar el plaguicida cerca del follaje del cultivo, y también evitan que las aspersiones produzcan deriva del producto por el viento (2), como es el caso de las aspersiones aéreas. Una vez aplicado el plaguicida, parte del producto se deposita en el follaje del cultivo (3), que a medida que pasa el tiempo va siendo eliminado, el resto del plaguicida cae por el follaje hasta llegar al suelo (4) [19].

Después, los plaguicidas son llevados hacia el suelo por las lluvias (5), cuando esto ocurre, con ayuda del agua, éstos pueden infiltrarse hasta el subsuelo y esto se denomina lixiviación (7), también los plaguicidas pueden ser acarreados por escorrentía superficial de manera lateral (6) o se puede presentar un flujo lateral (8) hacia localidades más bajas hasta llegar a vertientes de aguas superficiales. Por último, las aguas de escorrentía pueden contaminar las aguas superficiales (9), una parte del plaguicida puede depositarse en el follaje o volatilizarse y ser dispersado por el viento. Igualmente, el plaguicida puede degradarse durante cada proceso de transporte y transformarse en otros productos [19].

5.3.3. Toxicología de los plaguicidas.

“La Organización Mundial de la Salud (OMS) estableció una clasificación basada en su peligrosidad o grado de toxicidad aguda, definida ésta como la capacidad del plaguicida de producir un daño agudo a la salud a través de una o múltiples exposiciones, en un periodo de tiempo relativamente corto” [20]

La estimación estadística de la cantidad de una sustancia tóxica se mide con la dosis letal media DL_{50} , se mide en mg/Kg por peso corporal, necesario para matar el 50% de animales en experimentación. La exposición puede darse a través del agua o del aire y cuando esto sucede se le llama CL_{50} . Estos dos parámetros varían según la presentación del producto, la temperatura, la edad, el sexo, entre otros factores [20].

5.4. LEGISLACIÓN PARA EL CONTROL DE PLAGUICIDAS

5.4.1. Legislación internacional

Existe un código llamado el Codex Alimentarius, que es reconocido internacionalmente y cuyo objetivo es proteger la salud de los consumidores y

asegurar las prácticas en el transporte internacional de alimentos. En este código se enlistan los alimentos que no deben contener una cantidad muy alta de residuos de plaguicidas y en él, se señalan los límites máximos residuales para tener en cuenta en la entrada de los alimentos al país [21].

Otra reglamentación internacional que existe es el Convenio de Estocolmo, sobre contaminantes orgánicos persistentes (COPs), el cual es un acuerdo internacional que regula el tratamiento de las sustancias tóxicas [22].

Por último se tiene en la Región Andina un Manual técnico para el control de plaguicidas de uso agrícola, Resolución 630 de 2002 [22].

5.4.2. Legislación nacional

Ya sea por solicitud de los Ministerios de Salud o de Agricultura y mediante Resolución de la Gerencia General del ICA, o del Ministerio de Agricultura, desde 1974 hasta la fecha, se han venido restringiendo o prohibiendo el uso en el país de algunos plaguicidas señalados a continuación en la **Tabla 1** [23]. Una descripción más detallada de la normatividad en Colombia se presenta en el **Anexo 2**.

Ley, Resolución, Decreto o Acuerdo #	Año de emisión	Entidad que emite	Objeto de la norma
Ley 9	1979	Congreso de la República	Incluye normas generales sobre la producción, formulación, almacenamiento, distribución, movilización y aplicación de plaguicidas.
D-1843	1991	Ministerio de Salud	Reglamenta parcialmente los títulos III, V, VI, VII y XI de la Ley 9 de 1979 sobre uso y manejo de plaguicidas con el objeto de evitar que afecten la salud de la comunidad, la sanidad animal y vegetal o causen deterioro al medio ambiente
R-2471	1991	Instituto Colombiano Agropecuario ICA	Restringe los usos de PARATHION, únicamente a plagas de algodón y pastos tecnificados y del METIL PARATHION únicamente a plagas del algodón y arroz tecnificado.
R-1756	2006	ICA	Por el cual se adopta el manual de procedimientos de regulación y control de plaguicidas químicos de uso agrícola.
3930	2010	Congreso de la República	Por el cual se reglamenta parcialmente el Título I de la Ley 9ª de 1979, así como el Capítulo II del Título VI -Parte III- Libro II del Decreto-ley 2811 de 1974 en cuanto a usos del agua y residuos líquidos y se dictan otras disposiciones.

Tabla 1. Normatividad vigente para el control de plaguicidas en Colombia.

5.5. ANÁLISIS DE PLAGUICIDAS

5.5.1. Tipo de muestreo

Muestra simple:

Se habla de una muestra simple cuando se toma en un solo punto en un momento cualquiera, es una muestra individual y es representativa del efluente en el momento del muestreo. Este tipo de muestreo se usa principalmente cuando el agua residual que se quiere muestrear no circula de forma continua o constante [24].

Muestra compuesta:

La muestra compuesta consta de reunir varias muestras simples que se toman en un periodo de tiempo espaciado y de manera separada, estas muestras pueden tomar en horas semanas o meses. Entre las ventajas de este tipo de muestreo esta que es muy sencillo, ya que al recoger durante un periodo de tiempo las muestras simples, esta se puede componer de volúmenes proporcionales al caudal circulante, y es posible conocer la concentración y la cantidad de contaminantes del vertido en el tiempo o en su totalidad [24].

Métodos de muestreo

Los tipos de muestreo más utilizados son el muestreo manual **Figura 8** y el muestreo automático **Figura 9**.

Es conveniente usar el muestreo manual cuando se presentan muestras aceitosas, grasosas o materias volátiles o cuando la composición de una fuente es rconstante a través de un tiempo prolongado. Con este tipo de muestreo es sencillo observar condiciones inusuales durante el período de muestreo, pero requiere mayor dedicación humana para realizar este tipo de muestreo [24].



Figura 8. Muestreo manual de agua [24].

Para las aguas residuales es mejor usar el tipo de muestreo automático, pues estas aguas contienen materia disuelta (DBO5, DQO, metales pesados, etc.). Este tipo de muestreo se usa cuando se requiere un registro continuo. Los equipos usados para realizar los muestreos automáticos, pueden programarse para que tomen una muestra durante un tiempo determinado y a intervalos fijados [24].



Figura 9. Muestreo automático de agua [24].

También existe un método en el cual se involucra el muestro manual y el muestreo automático, este es llamado el muestreo mixto **Figura 10**, y convierte el muestreo en un sistema integrado en donde se pueden verificar de manera manual los resultados obtenidos en el muestreo automático [24].



Figura 10. Muestra mixto de agua [24].

5.5.2. Métodos de extracción

Para separar compuestos orgánicos e inorgánicos que se encuentran como mezclas es necesario realizar una operación unitaria, en este caso la extracción, existen varios tipos de extracción, entre los que se encuentran la extracción líquido-líquido, la extracción sólido- líquido, la extracción en fase sólida o clean up, entre otros [25].

5.5.2.1. Extracción líquido - líquido continuo

La extracción líquido- líquido es una operación usada no solamente para extraer compuestos orgánicos encontrados en fuentes naturales, sino también, para eliminar impurezas, es decir, es un método también usado para la purificación de compuestos. Experimentalmente, suele llevarse a cabo mediante el uso de una fase acuosa y una fase orgánica, de manera que el compuesto deseado se extrae en la fase orgánica dejando impurezas en la fase acuosa. En general, el compuesto deseado no se obtiene completamente puro, lo que hace necesario realizar en algunos casos, más de una extracción y así, eliminar la mayor cantidad de impurezas posibles. De este modo, se optimiza la extracción del compuesto que se quiere obtener [25].

5.5.2.2. Extracción sólido – líquido o Soxhlet

En el caso de la extracción sólido - líquido se separan uno o varios constituyentes solubles contenidos en un sólido inerte, en este tipo de extracción, se da un

cambio de fase del soluto, una difusión del soluto a través del disolvente y una transferencia del soluto desde la interfase sólido- líquido hasta la masa principal del disolvente, como consecuencia de esto, existen factores que influyen sobre la velocidad de la extracción, estos factores son: el tamaño de las partículas sólidas, estas no deben ser muy grandes, pero tampoco muy pequeñas; el tipo de disolvente, que debe ser preferiblemente de baja viscosidad y muy selectivo; la temperatura, la cual favorece la solubilidad y la agitación del disolvente- soluto, que ayuda a evitar la sedimentación [26].

5.5.2.3. Extracción en fase sólida (Clean up)

Este tipo de extracción se usa para limpiar la muestra previa al análisis, el material de soporte usado es un sólido, y por medio de él pasa un líquido o un gas. En el soporte sólido se absorben los analitos y luego se eluyen de acuerdo a la afinidad entre el material absorbente y la fase móvil empleada. Las ventajas son que en esta extracción el tamaño de muestra no es un impedimento, puede ser grande o pequeña y, el consumo de reactivos es muy poco, evitando también la contaminación [26]. En la siguiente figura se ilustra el proceso de la extracción.

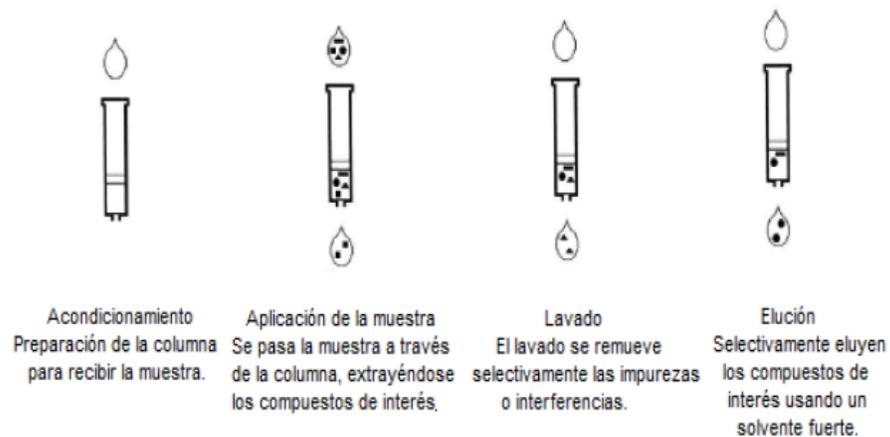


Figura 11. Etapas de extracción en fase sólida [26].

5.5.3. Cromatografía de gases

La cromatografía es un método de separación basado en la distribución de la muestra entre dos fases. Una fase consiste en un gas o líquido que transporta el

analito a través de la columna sin tener interacción con éste. Esta fase se denomina fase móvil [27].

La otra fase se denomina estacionaria la cual es un sólido o una delgada película líquida que recubre al sólido, sus propiedades deben ser baja reactividad, baja volatilidad y tener una alta estabilidad térmica. Esta fase está constituida por compuestos orgánicos con alto punto de ebullición como lo son el carbón mineral y gel de sílice. En cromatografía de gases, la fase móvil se denomina gas portador, ya que a diferencia de las otras técnicas cromatográficas esta fase no presenta interacción con el analito y por tal razón solamente transporta la muestra a través de la columna [27].

En la cromatografía de gases se emplea el procedimiento de elución; la muestra se adiciona a la columna y el gas puro que actúa de portador fluye continuamente. Esta técnica tiene la ventaja de que los picos de la muestra están rodeados por un gas portador puro y cuando se concluye el análisis, la columna queda lista para otra muestra [27].

En cromatografía de gases los componentes de una muestra son vaporizados según sus diferentes temperaturas de ebullición, posteriormente son transportados por la fase móvil a través de la columna cromatográfica y se separan como consecuencia de las diferentes interacciones entre cada uno de los componentes de la muestra y la fase estacionaria [28].

5.5.3.1. Sistema de inyección

El sistema de inyección consta de unas micro jeringas para líquidos o gases las cuales inyectan la muestra con una velocidad determinada ya que si la muestra se inyecta lentamente, las bandas se ensanchan y la resolución no es adecuada [29].

La inyección de la muestra se realiza a través de una membrana de goma o silicona, llamada septum. La muestra llega a una cámara donde se vaporiza, la cual está situada en la cabeza de la columna, a una temperatura de 50° mayor que el componente menos volátil de la muestra [29].

Se emplean diferentes tamaños de muestras, para columnas empacadas desde décimas de μL -20 μL con columnas capilares: 10^{-3} μL hasta 1 μL para estos volúmenes es necesario usar un divisor de muestra, que la desecha y hace pasar a la columna una fracción de ella [29].

Un inyector debe funcionar en el modo Split/splitless, en el modo Split la muestra se divide antes de entrar a la columna, en el modo splitless toda la muestra se

inyecta en la columna. Con columnas capilares siempre se debe operar en el modo Split, porque estas tienen menor capacidad de muestra, con muestras muy concentradas es conveniente usar el modo Split para evitar sobrecargas de muestra en la columna [29].

En la **Figura 12** se presenta un esquema básico de un cromatógrafo de gases.

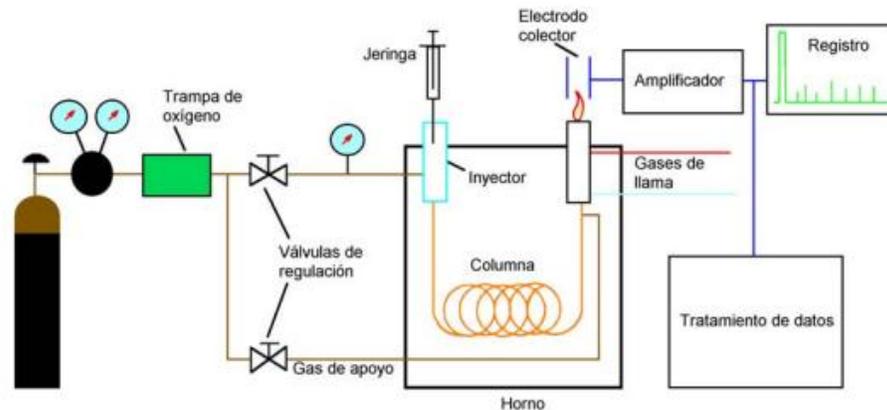


Figura 12. Esquema básico del cromatógrafo de gases [29].

5.5.3.2. Fase móvil

En la cromatografía de gases la fase móvil se llama gas portador y debe ser químicamente inerte. El helio es el gas para fase móvil más común, pero también se usan argón, nitrógeno e hidrógeno. Estos gases se surten en recipientes a presión. Se requieren reguladores de presión, manómetros y medidores de flujo para controlar la corriente del gas. Además, el sistema del gas portador contiene a menudo un tamiz molecular para eliminar el agua y otras impurezas [30].

Los flujos se controlan mediante un regulador de presión de dos etapas colocado en el cilindro de gas y algún tipo de regulador de presión o de flujo instalado en el cromatógrafo [30].

5.5.3.3. Fase estacionaria

Es una de las características más importantes para el análisis cromatográfico. La fase estacionaria puede ser líquida o sólida, en columnas capilares las fases estacionarias líquidas están recubiertas en el interior de la columna. Cuantificar la

polaridad de la fase estacionaria es muy difícil debido a que en estas se presenta una gran cantidad de interacciones moleculares, además de poseer un problema con las altas temperaturas provocando el sangrado en las columnas y una inclinación pendiente de la línea base [30]

5.5.3.4. Columna

En la columna es donde se lleva a cabo la separación, éstas pueden ser de dos tipos: empaquetadas o de relleno y tubulares o capilares, ambas tienen forma helicoidal para colocarlas dentro del horno. Las columnas capilares, de sílica fundida son muy frágiles, por lo que se deben proteger de fracturas durante el almacenamiento y guardar con los extremos sellados para prevenir la oxidación. Es importante escoger una columna adecuada para realizar un buen proceso de separación [31].

5.5.3.5. Detector

El dispositivo que mide la concentración de cada uno de los componentes de la muestra y genera una señal eléctrica proporcional a dicha concentración es el detector. Los detectores deben presentar una sensibilidad adecuada, buena estabilidad y reproductibilidad, respuesta lineal para solutos que se extienda a varios órdenes de magnitud, intervalo de temperaturas desde la temperatura ambiente hasta al menos 400°C, un tiempo de respuesta corto independiente de la tasa de flujo, no debe destruir la muestra y debe presentar una respuesta semejante para todos los solutos o, por el contrario, una respuesta selectiva y altamente predecible para uno o más tipos de solutos [31].

Los detectores usados se describen a continuación:

Detector de captura de electrones (ECD): Estos detectores provocan disminución de la intensidad de la corriente eléctrica. El gas portador nitrógeno fluye a través del detector y forma electrones lentos, los cuales se desplazan hacia el ánodo y se produce una corriente constante que se amplifica por un electrómetro. La corriente se reduce cuando se introduce en el detector una muestra. Con la calibración apropiada, puede relacionarse esta pérdida de corriente con la concentración de la muestra [31].

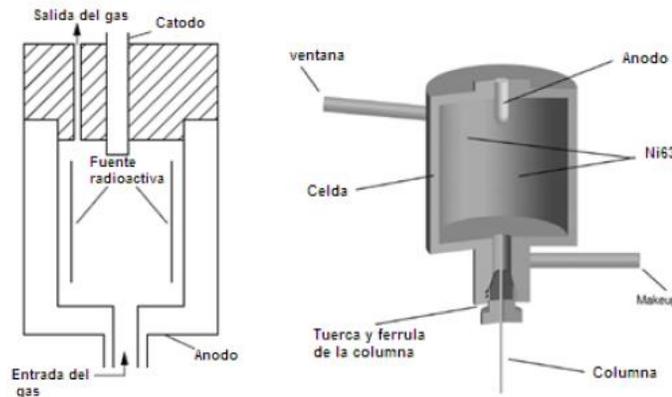


Figura 13. Detector de captura electrónica [31].

Detector de ionización de llama (FID): El funcionamiento de los detectores de ionización se basa en el principio de que la conductividad eléctrica de un gas es directamente proporcional a la concentración de las partículas cargadas dentro del gas. El gas portador fluye desde la columna hasta la llama, la cual ioniza algunas de las moléculas orgánicas presentes en la corriente gaseosa. La presencia de partículas cargadas en el espacio entre los electrodos origina una corriente que fluye en éste y a través de una resistencia que los mide. La disminución de potencial resultante se amplifica por un electrómetro y se alimenta a un registrador [31].

5.5.3.6. Curva de calibración

Se inyectan cantidades exactas de la muestra pura. Luego se representan los valores de las áreas del pico en función del peso conocido inyectado. Se obtiene así una curva de calibración; debería ser lineal y pasar por el origen (no hay muestra, no hay respuesta).

Ahora, se inyecta una cantidad exacta del material conocido. Se mide el área del pico y a partir de la curva de calibración se calcula la cantidad de muestra presente en el material desconocido [31].

5.5.3.7. Registro de datos o sistema de datos

Es el dispositivo en el cual rápidamente se interpreta la señal del GC por medio de un hardware. Generalmente hay dos tipos de sistemas utilizados, el integrador-computadores y el microprocesador-basado en integradores, este último tiene la

capacidad de convertir la señal de análogo a digital produciendo el cromatograma como señal análoga y el digital para reportar análisis cuantitativos [32].

5.5.4. Estandarización del método

5.5.4.1. Repetitividad

Es la precisión expresada como la concordancia obtenida entre las determinaciones independientes realizadas en el mismo laboratorio, bajo las mismas condiciones de operación en un intervalo corto de tiempo (mismo día), por un mismo analista, en la misma muestra homogénea y en el mismo equipo. Es función de la variabilidad que tiene el equipo de medida o calibre. Se expresa como el coeficiente de variación %CV [33].

5.5.4.2. Reproducibilidad

Es un concepto de precisión relacionado con medias hechas bajo iguales condiciones pero con variación de al menos un factor. Expresa la precisión entre laboratorios como resultado de estudios interlaboratoriales diseñados para estandarizar la metodología.

Variación de la media de las mediciones realizadas por diferentes personas usando el mismo equipo de medición para medir las mismas características de las mismas piezas. Es función de la variabilidad del operador [34].

5.5.4.3. Linealidad y sensibilidad

Uno de los aspectos más relevantes de la estadística es el análisis de la relación o dependencia entre variables. Frecuentemente resulta de interés conocer el efecto que una o varias variables pueden causar sobre otra, e incluso predecir mayor o menor grado valores en una variable a partir de otra. Los métodos de regresión estudian la construcción de modelos para explicar o representar la dependencia entre una variable respuesta o dependiente (Y) y la(s) variable(s) explicativa(s) o independiente(s), X [34].

5.5.4.4. Límite de detección (LOD)

El límite de detección se define como la cantidad o concentración mínima de sustancia que puede ser detectada con fiabilidad por un método analítico determinado. Intuitivamente, el LDD sería la concentración mínima obtenida a

partir de la medida de una muestra (que contiene el analito) que seríamos capaces de discriminar de la concentración obtenida a partir de la medida de un blanco, es decir, de una muestra sin analito presente [35].

5.5.4.5. Límite de cuantificación (LOQ)

Es la mínima concentración (o cantidad) de analito en una muestra que puede ser determinado con aceptable exactitud y precisión, bajo las condiciones experimentales establecidas [36].

5.5.4.6. Porcentaje de recuperación (% Rec)

Proporción de la cantidad de analito, presente en la porción de la muestra ó adicionado a ésta, que es cuantificada por el método de ensayo [35].

Normalmente se utiliza para evaluar la recuperación en porcentaje (% de recuperación) del analito presente o agregado a una muestra de control de calidad, evalúa la eficiencia de extracción, proceso de preparación o interferencias que pueden existir al aplicar el método de ensayo.

6. METODOLOGÍA

6.1. TOMA DE MUESTRAS

Las muestras fueron tomadas en la vereda La Florida, Finca “Bella Vista”. Se tomaron tres muestras de agua y tres muestras de suelo de manera aleatoria para su respectivo análisis. Dado que la fumigación del cultivo de cebolla se realiza semanalmente, se decidió realizar el muestreo durante tres semanas, tomando la primera muestra de agua y la primera muestra de suelo en el día uno de la fumigación en la semana número uno. Las muestras siguientes se tomaron en la semana número dos un día después de realizarse la fumigación del cultivo. Y finalmente, se realizó el último muestreo en la semana número tres a los dos días de haberse dado la fumigación.

Muestreo de suelo:

El terreno consta de un grado de inclinación que varía entre los 10° y 50°, y con el fin de tomar una muestra representativa del suelo y garantizar la homogeneidad de la muestra, se realizó un muestro compuesto, abarcando de esta manera todo el lote sembrado [37]. En la **Figura 14** se presenta un esquema de la diferenciación de las áreas de muestreo.

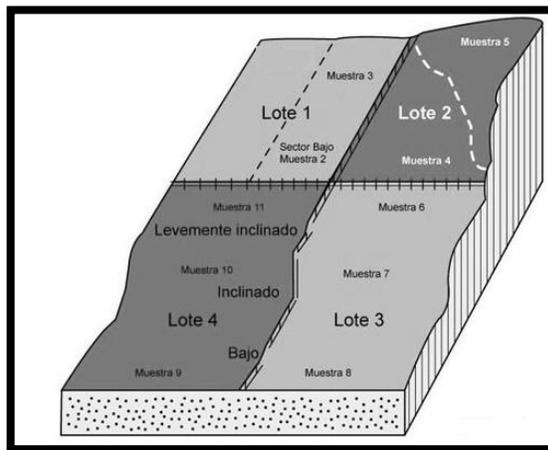


Figura 14. Diferenciación de las áreas de muestreo [37].

La muestra compuesta está constituida por un número de submuestras. Cada submuestra se extrae a una profundidad de aproximadamente 30cm. El recorrido para la toma de muestras efectuado fue el de zig-zag, como se observa en la siguiente figura:

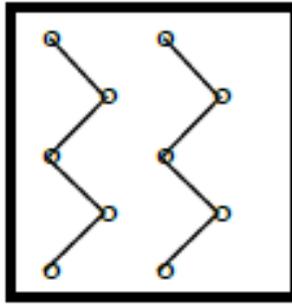


Figura 15. Patrón de recorrido para la extracción de las submuestras del suelo [37]

Se comienza por la eliminación de la cobertura vegetal u hojarasca en cada punto seleccionado y con una pala se realizó un corte en el suelo en forma de V, luego se sacó la porción descartando los bordes con cuchillo. Finalmente, se introdujo la muestra en una bolsa limpia desmenuzando los terrones.

Una vez obtenida la última submuestra se colocó sobre un plástico limpio, se mezcló y se dividió en cuatro partes iguales, de las cuales se guardó una para volver a repetir el cuarteo, hasta llegar a un peso final aproximado de 1Kg. Por último, la muestra se etiquetó y siendo necesaria la refrigeración de la muestra, ésta se almacenó en una nevera portátil para su transporte [38]. Este proceso se observa en el diagrama de la **Figura 16**, las muestras reales obtenidas se observan en la **Figura 17** y la **Figura 18**.

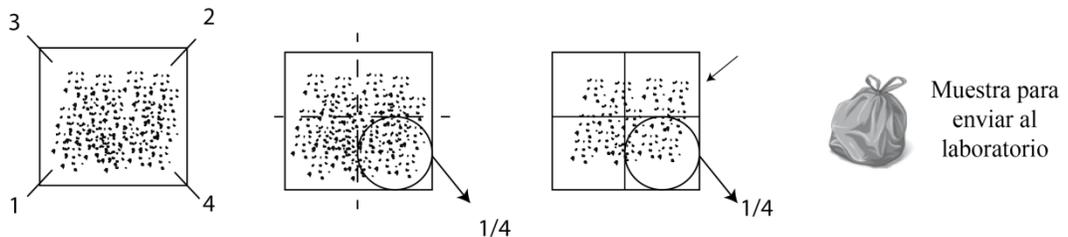


Figura 16. Obtención de a muestra compuesta por cuarteo a partir de las submuestras desmenuzadas y mezcladas.

Esquema realizado por Mariana Rubio Cárdenas. Diseñadora Gráfica



Figura 17. Muestreo de suelo

Fotografía por Mónica Rubio Cárdenas



Figura 18. Muestra de suelo recolectada para el análisis.

Fotografía por Mónica Rubio Cárdenas

Muestreo de agua:

Las muestras de agua de escorrentía se tomaron en un grado de inclinación de 22.3° y 25° (esto se logró con ayuda de la aplicación smart tools). Se realizó un muestro puntual siguiendo las recomendaciones del Standard Methods. Las muestras se recolectaron en envases ámbar con capacidad para 1L, se tomó la

temperatura y el pH. El método de muestreo fue manual, ya que el sitio donde se recolectaron las muestras era de fácil acceso. La ventaja de este tipo de muestreo, es permitir al encargado de tomar la muestra observar los cambios en las características del agua, en cuanto a sustancias flotantes, color, olor, aumento o disminución de caudal.

Las muestras se transportaron rápidamente al laboratorio para ser refrigeradas y analizadas en un plazo inferior a 7 días después de su recolección. Los extractos deben ser refrigerados a 4°C para su posterior análisis por cromatografía de gases en un plazo no superior a 40 días después de la extracción. El proceso de recolección de la muestra y la muestra recolectada se observan en la **Figura 19** y la **Figura 20** y **Figura 21**, respectivamente.



Figura 19. Muestreo de agua.

Fotografía por Mónica Rubio Cárdenas



Figura 20. Recipientes para las muestras de agua.

Fotografía por Mónica Rubio Cárdenas



Figura 21. Muestra de agua recolectada para el análisis.

Fotografía por Alejandro Vallejo Reyes.

6.2. PREPARACIÓN DE MUESTRAS

Las muestras de suelo se secaron a temperatura ambiente durante dos días aproximadamente, después se pesaron 20g de suelo de cada una de las muestras.

Por otro lado, las muestras de agua se filtraron para eliminar cualquier tipo de suciedad presente en ellas, a continuación se tomaron 800mL de cada muestra para su posterior extracción.

6.3. ESTÁNDAR Y REACTIVOS

Se utilizó el estándar de plaguicidas organofosforados compuesto por una mezcla de 20 pesticidas, marca RESTEK 8140/8141 OP Pesticide Calibration Mix A 200 μ g/mL, Hexane/Acetone catalogo No 32277 Lot No. A095110. En el **Anexo 1** se encuentra el certificado del estándar.

Para la elaboración de la curva de calibración de plaguicidas organofosforados y para la contaminación de las muestras para evaluar el porcentaje de recuperación

se preparo a partir del estándar “Pesticide Calibration Mix A” una dilución de 50µL del estándar en 1mL de Hexano/acetato de etilo 80:20 (se reemplazo la acetona por acetato de etilo debido a que cuentan con propiedades similares), obteniendo una concentración de 10ppm, de la cual se hicieron la curva de calibración y la contaminación de las muestras para el porcentaje de recuperación.

Plaguicidas	Pureza	#CAS	Concentración (µg/mL)
Diclorvos	97%	62-73-7	199.3
Mevinphos (phosdrin)	96%	7786-34-7	198.7
Demeton O & S	92%	8065-48-3	199.2
Ethoprophos	98%	13194-48-4	198.9
Naled	98%	300-76-5	198.5
Phorate	98%	298-02-2	198.9
Diazinon	98%	333-41-5	199.4
Disulfoton	99%	298-04-4	200.0
Methyl parathion	99%	298-00-0	200.5
Fenchlorphos (Ronnel)	98%	299-84-3	200.9
Fenthion	98%	55-38-9	198.9
Chlorpyrifos (Dursban)	99%	2991-88-2	200.0
Trichloronate	98%	327-98-0	199.9
Merphos	95%	150-50-5	199.0
Stirofos (tetrachlorvinphos)	97%	961-11-5	198.4
Tokuthion (prothiofos)	94%	34643-46-4	199.3
Fensulfothion	97%	115-90-2	198.9
Bolstar	95%	35400-43-2	199.5
Azinphos methyl (guthion)	99%	86-50-0	201.0
Coumaphos	99%	56-72-4	200.0
Solvent: Hexane/Acetone 80:20	99%	110-54-3 / 67-64-1	

Tabla 2. Características del estándar de plaguicidas organofosforados marca RESTEK 8140/8141

Los solventes grado cromatográfico usados fueron: Acetonitrilo (Merk), hexano, acetona (Fisher Scientific). Los reactivos sulfato de sodio anhidro, silica gel y florisil (60-100-Mesh:J. T. Baker)

6.4. ELABORACIÓN DE LA CURVA DE CALIBRACIÓN

Para la elaboración de la curva de calibración se prepararon patrones de los pesticidas organofosforados de 0.05ppm, 0.1mg/L, 0.25 mg/L, 0.5 mg/L, 1 mg/L, y 10 mg/L, usando como solvente Hexano-Acetato de etilo (80:20).

6.5. METODOLOGÍA DE EXTRACCIÓN

La parte experimental se llevó a cabo en los Laboratorios de la Escuela de Química. Para la extracción de las muestras de suelo se usó el sistema de extracción Soxhlet y para la extracción de las muestras de agua se realizó la extracción líquido - líquido continuo.

Todas las muestras se reconstituyeron e inyectaron en Hexano/acetato de etilo (80:20), después de su debida extracción líquido-líquida, sólido-líquida con diclorometano, proceso de clean up con sílica gel, concentración con rotaevaporador y proceso de sequedad con nitrógeno.

6.5.1. Extracción líquido – líquido continuo

Se realizó el montaje de extracción adicionando en el cilindro 300mL de diclorometano y 800mL de la muestra de agua. La muestra se contaminó con 50 μ L de la mezcla de plaguicidas a una concentración de 10mg/mL, preparada a partir de la mezcla estándar de 200mg/mL. En el balón se adicionan 250mL de diclorometano y las perlas de ebullición. El proceso se llevó a cabo durante 15 horas para cada muestra. Las muestras se reservaron para su posterior concentración en el rotaevaporador. En la **Figura 22** se observa el montaje de dicha extracción.

6.5.2. Extracción sólido – líquido soxhlet

Se pesaron 20g de suelo seco y se colocaron en un dedal, se contaminó la muestra con 50 μ L de la mezcla de plaguicidas a una concentración de 10mg/mL, preparada de la mezcla estándar inicialmente a 200mg/mL. Se realizó el montaje de extracción (**Ver Figura 23**). En el balón se adicionaron aproximadamente 200mL de diclorometano y las perlas de ebullición, se dejó el reflujo durante 5 horas y se reserva la muestra para su posterior concentración en el rotaevaporador.



Figura 22. Equipo de extracción líquido- líquido continuo

Fotografía por Mónica Rubio Cárdenas



Figura 23. Equipo de extracción Soxhlet

Fotografía por Mónica Rubio Cárdenas

6.5.3. Extracción en fase sólida (clean up), concentración con rotaevaporador y reconstitución de las muestras.

La limpieza para los compuestos organofosforados se realiza para eliminar interferentes de alto peso molecular que contienen las matrices en estudio, como por ejemplo: clorofilas, pigmentos, ceras, proteínas, carotenos, entre otros. La limpieza emplea una fase móvil compuesta por diclorometano y una fase estacionaria de Florisil en una minicolumna con un volumen de 3cm.

El volumen obtenido luego de este procedimiento se concentró a 1mL empleando un rotaevaporador marca Heidolph, programando las siguientes condiciones, tomadas del laboratorio de residuos de la Universidad Tecnológica de Pereira.

Temperatura máxima del baño: 45°C

Temperatura de ebullición del Diclorometano: 40.7°C

Revoluciones por minuto: 45rpm

Temperatura del baño: 40°C

Posteriormente se llevo a sequedad con ayuda de un cilindro de nitrógeno a una presión aproximadamente de 5KPa, para reconstituir con Hexano-Acetato de etilo (80:20), ya que el estándar marca RESTEK, sus especificaciones y cromatograma son corridas en este mismo solvente. Finalmente, las soluciones se almacenaron en viales de 2 ml con tapa de septum perforable (Agilent), refrigerándolas para su posterior análisis cromatográfico a las condiciones que se muestran anteriormente.

6.6. ANÁLISIS CROMATOGRÁFICO.

El análisis de plaguicidas organofosforados se realizó por medio de un cromatógrafo de gases GC-2014 marca SHIMADZU ubicado en el Laboratorio de la Escuela de Química. Este cromatógrafo se encuentra equipado con un puerto de inyección automático AOC-20i marca SHIMADZU split/splitless, una columna capilar MTX-5 con longitud: 30m, diámetro interno: 0.25mm, espesor de película: 0.50µm, y al final de la columna un detector de captura electrónica ECD ⁶³Ni. Las condiciones cromatográficas utilizadas en el análisis de los plaguicidas tanto en la matriz de agua como de suelo fueron las siguientes:

Volumen de inyección: 1µL

Modo de inyección: splitless

Temperatura del inyector: 250.0°C

Gas de arrastre: Helio

Flujo de purga: 3.0mL/min

Velocidad lineal: 19.1cm/s

Flujo total: 4.8mL/min

Presión: 69KPa

Flujo de columna: 0.61mL/min

Columna capilar MTX-5 serie 508529G1 (Longitud: 30m, Diámetro interno: 0.25mm, Espesor de película: 0.50µm)

Detector: Captura electrónica con isótopo radioactivo Níquel 63, ECD ⁶³Ni.

Temperatura del detector: 330°C

Velocidad de muestreo: 40ms

Programación de temperatura del horno.

Razón de calentamiento °C/min	Temperatura (°C)	Tiempo de espera (min)
-	100.0	1.0
4.0	300.0	5.0

Tabla 3. Condiciones de calentamiento del cromatógrafo.

7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

7.1. ANÁLISIS CROMATOGRÁFICO DEL ESTÁNDAR

En primera instancia se realizó el análisis cromatográfico para el estándar de plaguicidas marca RESTEK que contiene la mezcla de los 20 plaguicidas descritos anteriormente, éste estándar se encontraba a una concentración de 200ppm. Se inyectó en el cromatógrafo obteniendo los resultados mostrados a continuación en la **Figura 24**:

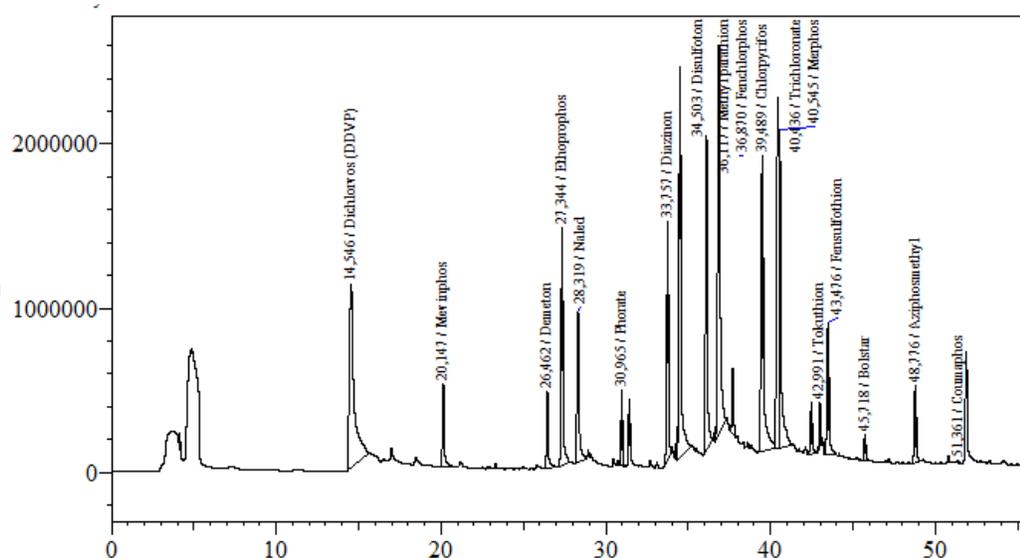


Figura 24. Cromatograma de estándar a 200mg/L de mezcla de plaguicidas organofosforados

Posteriormente, se identificaron claramente los 20 plaguicidas en estudio según sus tiempos de retención y se realizó la curva de calibración para la cuantificación de las muestras reales.

Plaguicidas	Tiempo de retención (min)
1. Diclorvos	14.546
2. Mevinphos (phosdrin)	20.147
3. Demeton O & S	26.462
4. Ethoprophos	27.344
5. Naled	28.319
6. Phorate	31.421
7. Diazinon	33.757
8. Disulfoton	34.503
9. Methyl parathion	36.117
10. Fenclorphos (Ronnel)	36.870
11. Fenthion	37.701
12. Chlorpyrifos (Dursban)	39.489
13. Trichloronate	40.436
14. Merphos	40.545
15. Stirofos (tetrachlorvinphos)	42.466
16. Tokuthion (prothiofos)	42.991
17. Fensulfothion	43.476
18. Bolstar	45.718
19. Azinphos methyl (guthion)	48.776
20. Coumaphos	51.881

Tabla 4. Tiempo de retención de los plaguicidas organofosforados

7.2. CURVA DE CALIBRACIÓN

La curva de calibración se construyó representando gráficamente el área vs. la concentración para cada plaguicida como se observa en la **Figura 25**. En el **Anexo 3** se encuentran las gráficas de los plaguicidas restantes.

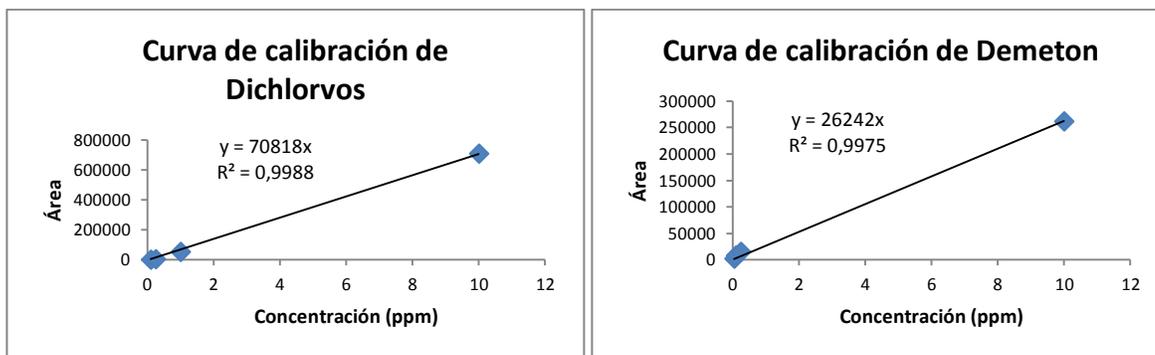


Figura 25: Curvas de calibración para los paguicidas presentes en el estándar.

Para la elaboración de la curva de calibración del método cromatográfico se realizaron diluciones sucesivas a partir del estándar de 10mg/L. Las concentraciones de los patrones de la curva de calibración van desde 10mg/L hasta 0.05mg/L, estas concentraciones se prepararon de tal forma que el límite máximo residual (LMR) estuviera dentro del rango de la curva de calibración. Los valores para la elaboración de la curva de calibración del estándar de plaguicidas se presentan en la **Tabla 5**.

Patrón N°	Concentración (mg/L)
1	0.05
2	0.10
3	0.25
4	0.50
5	1.00
6	10.00

Tabla 5. Patrones para la curva de calibración de los pesticidas organofosforados

7.3. TRATAMIENTO ESTADÍSTICO

Los parámetros estadísticos necesarios en la estandarización del método para cada curva de calibración son los siguientes:

R^2 coeficiente de correlación
Relación lineal

Limite de detección
Limite de cuantificación
Exactitud

Las curvas de calibración se modelaron según el método de mínimos cuadrados simple. Se evaluaron la pendiente y el intercepto mediante la regresión, los límites de detección y cuantificación fueron calculados utilizando una extrapolación de la recta de calibrado a concentración cero donde primero se obtuvo la pendiente, y se realizó una lectura por triplicado del blanco, de la cual se obtuvo la desviación estándar.

Se estableció la señal del ruido proporcionada por un blanco y se calcularon los valores de límite de detección y límite de cuantificación. El LC se calculó para la concentración que proporcione una señal 10 veces superior a la señal producida por el ruido de fondo (blanco), mientras que el LD es igual a la concentración de analito que proporcione una señal 3 veces superior a este.

El cálculo se realizó de la siguiente manera: Primero se determinó la señal del blanco por triplicado y se calculó un promedio de estas tres medidas para luego obtener la desviación estándar mediante la siguiente ecuación [34]:

$$\sigma = \sqrt{\frac{1}{N-1} \sum_{i=1}^N (x_i - \bar{x})^2}$$

Donde:

N es el número de datos

X_i es el área de la señal proporcionada por cada blanco

\bar{X} es el promedio de las tres medidas de la señal del blanco

Una vez obtenida la desviación estándar se calculó el límite de detección y posteriormente el límite de cuantificación para cada plaguicida de la siguiente manera:

$$LD = \bar{X} + \frac{3\sigma}{m} \quad [34]$$

$$LC = \bar{X} + \frac{10\sigma}{m} \quad [34]$$

Donde m es la pendiente de la gráfica realizada para cada plaguicida en L/mg

A continuación se presenta el cálculo para el Dichlorvos y en el **Tabla 6** se registran los resultados de los demás plaguicidas.

$$LD = -0.0005167 + \left(\frac{3(0.0002255)}{70818L/mg} \right) = 2.26 \times 10^{-9}$$

$$LC = -0.0005167 + \left(\frac{10(0.0002255)}{70818L/mg} \right) = 2.45 \times 10^{-8}$$

La relación lineal de las curvas de calibración se determina realizando una representación gráfica, con la cual se obtuvo la ecuación de la recta pendiente con su respectivo coeficiente de correlación.

Para la mayoría de los plaguicidas se observa un comportamiento lineal, con un $R^2 \geq 0.99$. El promedio de los coeficientes de correlación R^2 es de 0.9954, lo que indica que en general, las curvas de calibración presentan un comportamiento lineal en el rango de concentración evaluado, ya que el valor obtenido de R^2 es muy cercano a 1, lo cual es lo ideal.

Los resultados obtenidos de R^2 tanto para este estudio, como para el estudio realizado de evaluación del grado de contaminación por pesticidas organofosforados en la cuenca del río Otún [12], son muy buenos, obteniéndose para ambos una linealidad ideal con un $R^2 \geq 0.99$, los cuales son resultados muy similares.

La sensibilidad para cada plaguicida se representa de acuerdo a la pendiente de la curva de calibración. En la **Tabla 6** se puede observar que para los plaguicidas analizados se presentó una alta sensibilidad.

Compuesto	Sensibilidad	R ²	LD	LC
1.Dichlorvos	70818	0.9988	1,38E-03	2,59 E-03
2.Mevinphos (phosdrin)	24632	0.9883	3,97 E-03	7,44 E-03
3.Demeton O & S	26242	0.9975	3,73 E-03	6,98 E-03
4.Ethoprophos	3330.2	0.9997	2,94 E-02	5,50 E-02
5.Naled	150958	0.9999	6,48 E-04	1,21 E-03
6.Phorate	21999	0.9908	4,39 E-03	8,22 E-03
7.Diazinon	86796	0.9999	1,13 E-03	2,11 E-03
8.Disulfoton	192431	0.9940	5,08 E-04	9,52 E-04
9.Methyl parathion	139542	0.9957	7,01 E-03	1,31 E-03
10.Fenchlorphos (Ronnel)	198169	0.9951	4,93 E-04	9,25 E-04
11. Fenthion	35175	0.9970	2,78E-03	5,21E-03
12.Chlorpyrifos (Dursban)	62690	0.9973	1,56E-03	2,92E-03
13. Trichloronate	157586	0.9821	6,21E-04	1,16E-03
14. Merphos	62690	0.9973	1,56E-03	2,92E-03
15.Stirofos (tetrachlorvinphos)	19240	0.9977	5,08E-03	9,52E-03
16.Tokuthion (prothiofos)	20174	0.9992	4,85E-03	9,08E-03
17. Fensulfothion	39453	0.9826	2,48E-03	4,64E-03
18. Bolstar	29840	0.9992	1,49E-02	2,80E-02
19.Azinphos methyl (guthion)	3546,1		2,48E-03	4,64E-03
20. Coumaphos	29840		3,28E-03	6,14E-03

Tabla 6. Resultados R², LD Y LC para cada uno de los compuestos

7.4. PORCENTAJE DE RECUPERACIÓN

Los porcentajes de recuperación se calcularon con la siguiente ecuación:

$$\%R = \left(\frac{CR}{CA} \right) \times 100$$

Donde:

CR es la concentración de analito medida en la muestra fortificada

CA es la concentración de analito adicionado (0,5mg/L)

A partir de la gráfica se calculó la concentración de cada plaguicida en la muestra fortificada. Una vez obtenido este resultado se calculó el porcentaje de recuperación tanto para agua como para suelo de cada plaguicida.

En la **Tabla 7** se registran los porcentajes de recuperación obtenidos por el método de extracción líquido- líquido para el agua. En la **Tabla 8** se registran los porcentajes de recuperación obtenidos por el método de extracción Soxhlet para el suelo. Igualmente se presentan las áreas y las ecuaciones de las gráficas obtenidas (x es la concentración y el área es Y), datos necesarios para el cálculo de la concentración del analito en la muestra fortificada.

Estos compuestos fueron los que obtuvieron la mejor respuesta analítica. Los porcentajes de recuperación de los demás plaguicidas se encuentran en el **Anexo 4** para el agua y **Anexo 5** para el suelo.

Nº de ID	Nombre del compuesto	Área	Ecuación de la gráfica	Porcentaje de recuperación de agua (%)
1	Dichlorvos	38936.1	Y=70818x	109.96
2	Mevinphos (phosdrin)	13229.7	Y=24632x	107.42
5	Naled	40967.9	Y=150958x	54.28
6	Phorate	6885.6	Y=21999x	62.60
7	Diazinon	22892.5	Y=86796x	52.75
12	Chlorpyrifos (Dursban)	26403.3	Y=62132x	85.00
14	Merphos	34286.5	Y=62690x	109.38
15	Stirofos (Tetrachlorvinphos)	9245.4	Y=19240x	96.11
17	Fensulfothion	10383.7	Y=39453x	52.64
20	Coumaphos	15126.2	Y=29840x	101.38

Tabla 7. Porcentajes de recuperación en agua de los compuestos analizados.

A continuación se presenta el cálculo del porcentaje de recuperación de agua para el Mevinphos. El cálculo para el porcentaje de recuperación de suelo se realiza de igual manera, teniendo en cuenta que la concentración de analito medida en la muestra fortificada es para un volumen final de extracción de 1mL, quedando de esta manera en mg/mL.

$$\%R_{agua} = \left(\frac{\frac{0.5371mg}{L}}{\frac{0.5mg}{L}} \right) \times 100 = 107.4188\%$$

Los parámetros establecidos por la EPA (Agencia de protección ambiental de los Estados Unidos) señalan que un valor mínimo de recuperación aceptado es de 70% y un máximo es de 130% [39].

Se puede observar en la **Tabla 7** que los plaguicidas Dichlorvos, Mevinphos, Chlorpyrifos, Merphos, Stirofos (Tetrachlorvinphos) y Coumaphos presentan un buen porcentaje de recuperación, por lo tanto, el método de extracción líquido-líquido continuo y el solvente usado, en este caso, el diclorometano, fueron eficientes para dichos plaguicidas, obteniéndose porcentajes de recuperación mayores al 70%.

Si se comparan estos porcentajes de recuperación con los obtenidos en otras investigaciones, en las cuales se realizó el mismo procedimiento de extracción para los mismos plaguicidas en muestras de agua del río Otún [12], se encuentra que para los plaguicidas Dichlorvos, Mevinphos y Stirofos (Tetrachlorvinphos), en las dos investigaciones se obtuvieron porcentajes de recuperación entre 89.53 – 109.96%. Porcentajes de recuperación bastante altos la cual nos indica que el diclorometano es un solvente óptimo para la extracción de estos tres plaguicidas en muestras de agua con una metodología de extracción líquido – líquido continuo. Para el Chlorpyrifos el porcentaje de recuperación obtenido fue de 85.0%, se obtuvo un resultado mayor a este estudio, con un porcentaje de recuperación de 70.97%.

Por lo contrario, para los demás plaguicidas, en las dos investigaciones se obtuvieron porcentajes de recuperación muy bajos que se encuentran entre 11.17 – 62.71%. Por tal razón para estos plaguicidas el método de extracción líquido – líquido continuo con diclorometano no fue eficiente, ya que se obtuvieron porcentajes de recuperación menores del 70%.

Nº de ID	Nombre del compuesto	Porcentaje de recuperación de suelo (%)
2	Mevinphos (phosdrin)	58.87
5	Naled	75.78
6	Phorate	69.82
7	Diazinon	77.60
8	Disulfoton	74.23
12	Chlorpyrifos (Dursban)	53.16
15	Stirofos	102.15
17	Fensulfotion	111.69
20	Coumaphos	80.00

Tabla 8. Porcentajes de recuperación en suelos de los compuestos analizados.

Se observa en la **Tabla 8**, que para mayoría de los plaguicidas se obtuvo un porcentaje de recuperación superior al 70%, demostrando que para estos plaguicidas el método de extracción Soxhlet, y el solvente usado fueron eficientes. Se obtuvieron porcentajes de recuperación menores del 70% para el Chlorpirifos, Phorate y Mevinphos, siendo para estos compuestos ineficiente el método de extracción.

Para los demás plaguicidas, tanto en agua como en suelo, se obtuvieron porcentajes de recuperación mayores a 130%, esto indica que hay presente un efecto matriz. En el análisis de residuos de plaguicidas, debido a la naturaleza de las matrices y las concentraciones que se buscan analizar, se hace indispensable trabajar con detectores que presenten una muy alta sensibilidad y una gran selectividad hacia los compuestos de interés, es por ello que el detector usado para este análisis fue el de captura electrónica (ECD), el cual cumple con las características mencionadas.

Sin embargo, a pesar de la selectividad que presenta este detector, la elución de impurezas con tiempos de retención iguales a las del analito, trae consigo consecuencias como: Que el pico del analito sea enmascarado, la impureza pueda ser identificada como analito, la señal del detector sea incrementada o que la señal del detector sea reducida, ocasionando una mala estimación de la cantidad real del analito en la muestra [40].

Algunos interferentes que se pueden encontrar en la matriz son compuestos como grupos silanos, elementos de la materia orgánica o iones metálicos contenidos en la solución de la matriz [32].

7.5. ANÁLISIS DE LAS MUESTRAS

Se recolectaron las muestras de agua y suelo del cultivo de cebolla (*Allium Fistulosum*) provenientes de la finca Bella Vista en el corregimiento La Florida. Para la determinación de los compuestos organofosforados en estas muestras se emplearon las extracciones líquido- líquido continuo y sólido- líquido, Soxhlet respectivamente. Posteriormente, las muestras se analizaron por cromatografía de gases.

Para el análisis cualitativo de los plaguicidas organofosforados, se compararon los tiempos de retención del estándar con los tiempos de retención obtenidos en el análisis cromatográfico de las muestras reales. Para el análisis cuantitativo se

utilizó el método de patrón externo, en el cual se calcula la concentración por medio de una interpolación en una curva de calibrado, que relaciona el área de los estándares patrones con respecto a la concentración [32].

En el **Anexo 6** se encuentra la tabla de comparación de las áreas obtenidas para los patrones y para las muestras reales, tanto de agua como para el suelo.

En la **Figura 26** y **Figura 27** se muestran los cromatogramas para las muestras reales de agua tomadas de la Finca Bella Vista.

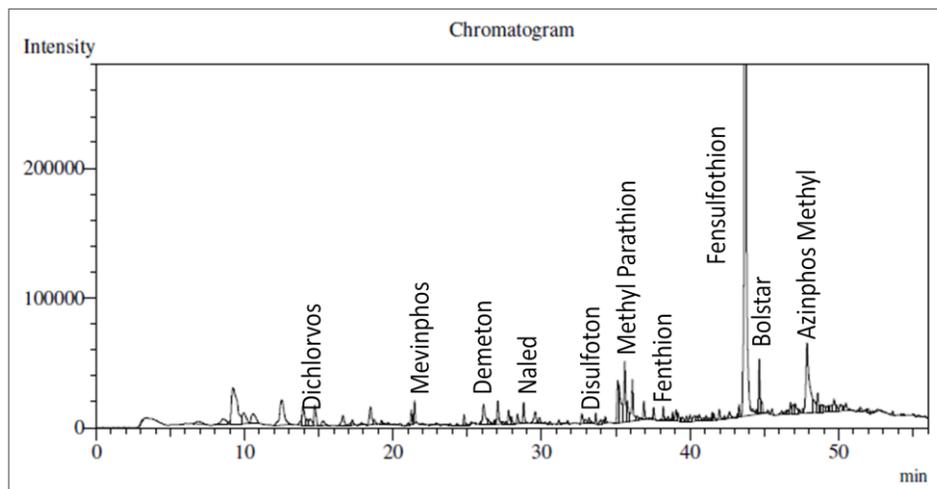


Figura 26. Cromatograma de la muestra real de agua 1.

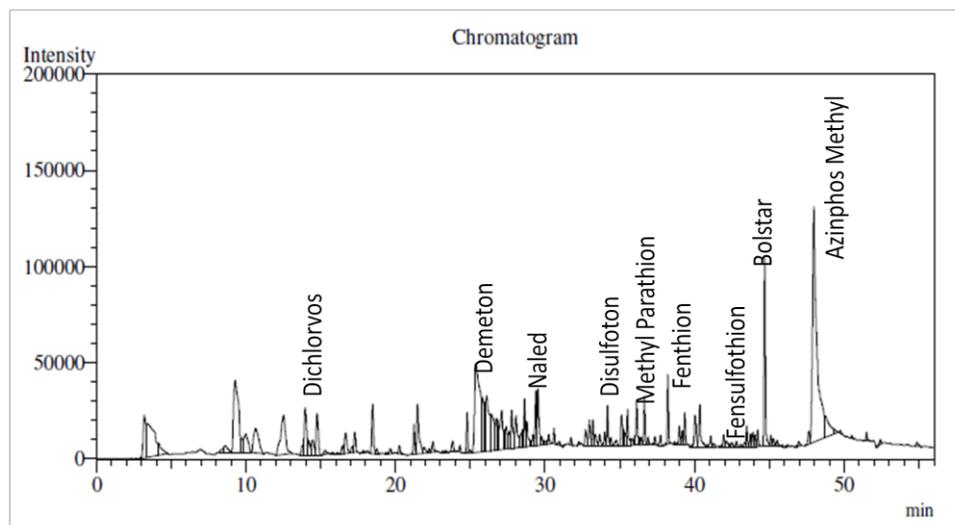


Figura 27. Cromatograma de la muestra real de agua 2.

Los cromatogramas obtenidos para el análisis de suelo se muestran a continuación. (**Figura 28** y **Figura 29**).

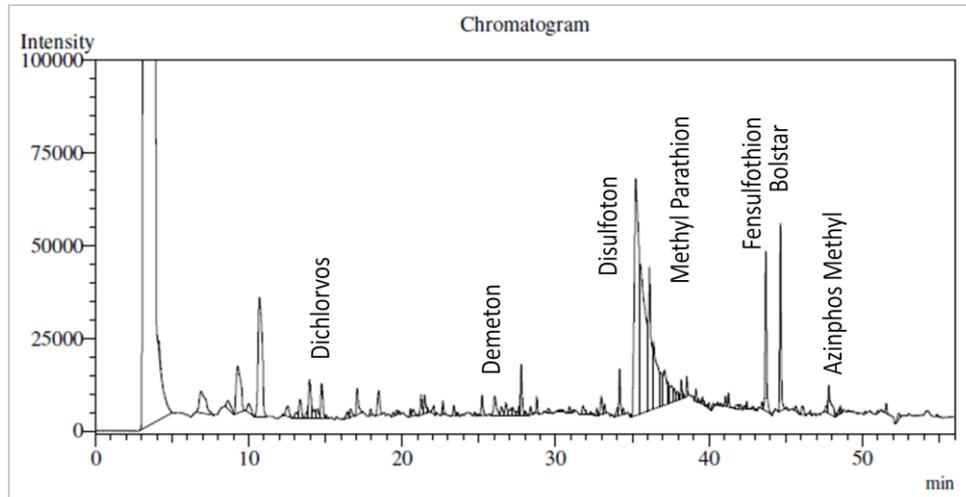


Figura 28. Cromatograma de la muestra real de suelo 1.

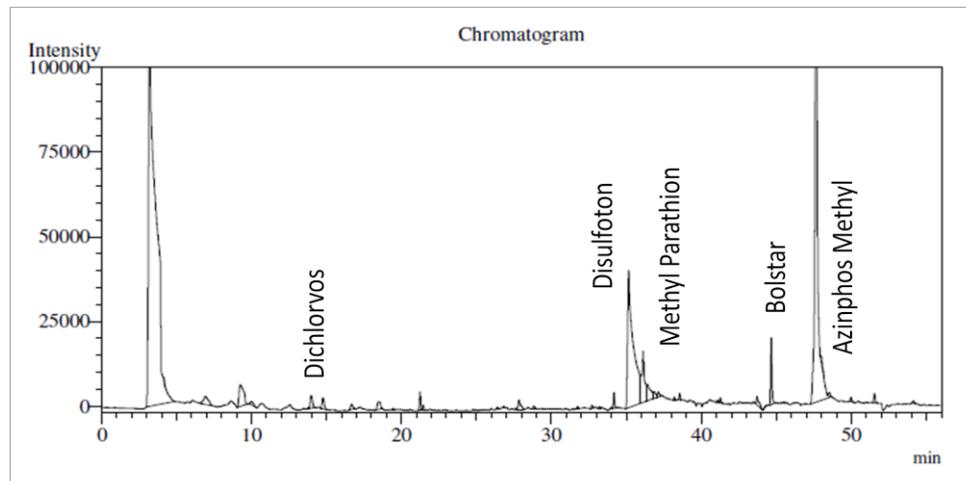
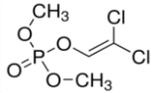
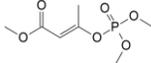
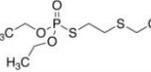
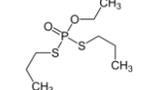
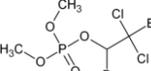
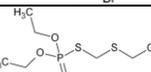
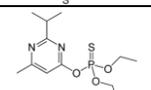
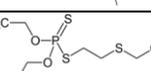
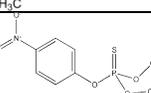
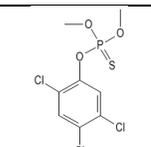
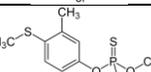
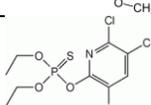
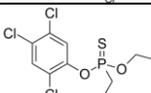
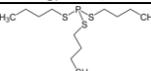
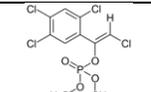
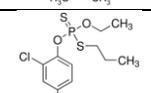


Figura 29. Cromatograma de la muestra real de suelo 2.

Los resultados del análisis se presentan en la **Tabla 9**.

Compuesto #	Estructura química	Concentración muestras de agua		Concentración muestras de suelo		LMR	
		Agua 1 (mg/L)	Agua 2 (mg/L)	Suelo 1 (mg/Kg)	Suelo 2 (mg/Kg)	AGUA (mg/L)	SUELO (mg/Kg)
1. Dichlorvos		0.00239	0.00362	0.0348	0.0136	0.1	0.1
2. Mevinphos (phosdrin)		0.00101	ND	ND	ND	0.1	0.1
3. Demeton O & S		0.0791	0.5343	0.3892	ND	0.1	0.4
4. Ethoprophos		ND	ND	ND	ND	0.1	0.1
5. Naled		0.00179	0.0038	ND	ND	0.1	0.1
6. Phorate		ND	ND	ND	ND	0.1	0.3
7. Diazinon		ND	ND	ND	ND	0.1	0.05
8. Disulfoton		0.009	0.004	0.4394	0.3624	0.1	0.5
9. Methyl parathion		0.009	0.003	2.5840	0.5837	0.1	1.0
10. Fenchlorphos (Rannel)		ND	ND	ND	ND	0.1	0.01
11. Fenthion		0.0047	0.0173	ND	ND	0.1	0.1
12. Chlorpyrifos (Dursban)		ND	ND	ND	ND	0.1	0.05
13. Trichloronate		ND	ND	ND	ND	0.1	0.1
14. Merphos		ND	ND	ND	ND	0.1	0.1
15. Stirofos (tetrachlorvinphos)		ND	ND	ND	ND	0.1	0.1
16. Tokuthion (prothiofos)		ND	ND	ND	ND	0.1	0.1

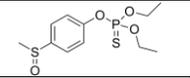
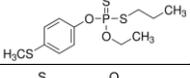
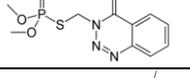
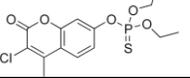
17. Fensulfothion		0.4937	0.0045	0.3091	ND	0.1	0.1
18. Bolstar		0.0304	0.0745	1.3287	0.580	0.1	0.1
19. Azinphos methyl (guthion)		0.2064	0.6251	0.2196	0.1056	0.1	0.5
20. Coumaphos		ND	ND	ND	ND	0.1	0.1

Tabla 9. Concentración de los plaguicidas en muestras reales de agua y suelo.

El análisis de las muestras reales de agua de los plaguicidas organofosforados detectó los plaguicidas Dichlorvos, Mevinphos, Demeton, Naled, Disulfoton, Methyl Parathion, Fenthion, Fensulfothion, Bolstar y Azinphos Methyl; teniendo en cuenta sus porcentajes de recuperación, se requiere un factor de corrección para determinar la concentración real de los plaguicidas de interés, para ello se utilizó la siguiente ecuación [41]:

$$Cr = Ce * Fc$$

Donde:

Cr: Concentración de la muestra real (mg/L)

Ce: Concentración obtenida en el equipo (mg/L)

Fc: Factor de concentración (Relación entre el volumen final al que se concentró la muestra, con el volumen inicial del cual se partió)

Los resultados de las concentraciones reales obtenidas en las muestras de agua se presentan en la **Tabla 9**.

Por otro lado, el análisis de las muestras reales de suelo detectó los siguientes plaguicidas: Dichlorvos, Demeton, Disulfoton, Methyl Parathion, Fensulfothion, Bolstar y Azinphos Methyl.

Para determinar la concentración real de los plaguicidas de interés se hizo uso de la siguiente ecuación [13]:

$$Cm = \frac{Cext * Vext}{\left(\frac{\%Rec}{100}\right) * m}$$

Donde:

Cm: Concentración de la muestra real (mg/Kg)

Cext: Concentración obtenida en el equipo (mg/L)

Vext: Volumen final a la que se concentró (L)

m: Masa de la muestra de suelo (Kg)

Los resultados de las concentraciones reales obtenidas en las muestras de suelo se presentan en la **Tabla 9**.

De acuerdo con los resultados obtenidos para las muestras de agua, se observa que, en general, la concentración de los plaguicidas: Dichlorvos, Mevinphos, Naled, Disulfoton, Methyl Parathion, Bolstar y Fenthion se encuentran con un rango de concentración entre 0.00101mg/L y 0.07914mg/L, estos valores están por debajo del límite máximo permitido para vertimiento de agua, según el Artículo 74 del Decreto 3930 de 2010, que es de 0.1mg/L para los plaguicidas organofosforados [42].

A pesar de que los plaguicidas Fensulfotion y Demeton presentan una concentración que sobrepasa el límite máximo permitido (0.49mg/L y 0.53mg/L, respectivamente), estos plaguicidas tienen una moderada persistencia en el ambiente, y, por lo tanto, no presentan un riesgo importante en la salud humana, ni para el medio ambiente en general [43].

En las dos muestras de agua se observa la presencia de Azinphos Methyl, con una concentración de 0.2064 y 0.6251mg/L, respectivamente para las muestras de agua 1 y agua 2, las cuales sobrepasan los límites máximos permitidos del decreto mencionado anteriormente. Sin embargo, no hay evidencia de que este compuesto presente acumulación en ambientes acuáticos [44], lo que garantiza que a pesar de sobrepasar los límites máximos permitidos, no presenta riesgo para la población tanto de la Florida, como la de Pereira.

Comparando las concentraciones de la muestras reales con el estudio: Evaluación del grado de contaminación por pesticidas organofosforados de la cuenca del río Otún, en las cuales se realizó la determinación de la concentración para los mismos plaguicidas en diferentes puntos de muestreo a través del río Otún [12], se

obtuvo que debido a que las muestras recolectadas en el presente estudio son muestras de suelo y agua que se encuentran directamente en los cultivos de cebolla *Allium fistulosum*, las cuales son fumigadas constantemente, hubo mayor cantidad de plaguicidas detectados, mientras que en los diferentes puntos de muestreo de la investigación mencionada anteriormente sólo se obtuvo la presencia del Chlorpyrifos con una concentración que se encuentra entre 0.003 – 0.01mg/L, ya que estos puntos de muestreo están más retirados de los cultivos de cebolla, lo que implica que los plaguicidas pueden llegar en concentraciones más bajas o que pueden ser degradados microbiológica, física o químicamente antes de llegar al río Otún.

En cuanto al suelo y de acuerdo a la **Tabla 9**, se puede observar que los plaguicidas Dichlorvos, Demeton, Azinphos Methyl y Disulfoton, presentan concentraciones dentro del límite máximo permitido en suelos para los cultivos de cebolla [45].

El Azinphos Methyl es un compuesto que se une fuertemente a las partículas del suelo, por ello su movilidad es reducida, y su capacidad de lixiviarse hasta aguas subterráneas es limitada [46]. Por esta razón, se puede concluir que la presencia del Azinphos Methyl en la muestra de agua pudo ser dada por un compuesto interferente, que enmascaró el analito obteniendo un aumento en la concentración, debido a que la estructura de este compuesto es afin a las partículas del suelo, y no es coherente encontrar una mayor concentración en agua de escorrentía que en las muestras del suelo, sabiendo que el plaguicida fue aplicado con un lapso de tiempo considerablemente largo, en el cual el Azinphos Methyl pudo haber sido adsorbido por el suelo.

Otro de los compuestos que sobrepaso el límite máximo permitido fue el Methyl Parathion, con una concentración de 2.58mg/L. Sin embargo, este compuesto se degrada en el suelo como resultado de procesos biológicos y químicos. La pérdida de este producto en el suelo se debe sobre todo a la biodegradación. La degradación aumenta cuanto mayor es la temperatura y la exposición a la luz del sol [47]. Según un estudio realizado por la EPA en México sobre los efectos que produce el Methyl Parathion en la salud y el ambiente [48], se encontró que la degradación del Methyl Parathion es muy rápida cuando se encuentra a concentraciones menores de 100ppm, este es el caso para dicho compuesto analizado proveniente de la finca Bella Vista en el corregimiento de La Florida.

Finalmente, tanto el Bolstar como el Fensulfotion presentaron concentraciones por encima de los límites máximos permitidos (**Ver Tabla 9**). Para el caso del

Bolstar, se tiene que este es un compuesto con un potencial de bioconcentración alto [48].

Según los resultados obtenidos para las muestras reales de agua y suelo se pudo observar que los plaguicidas aplicados en la finca “Bella Vista”, no representan un riesgo considerable para la salud humana ni para el medio ambiente, ya que estos plaguicidas son de persistencia moderada en el suelo y agua y son fácilmente biodegradables.

En cuanto a los porcentajes de recuperación tan bajos, que se encuentran registrados en los **Anexos 4 y 5**, cabe destacar que esto se pudo dar por la interrupción en los tiempos de extracción de las muestras, ya que el proceso para cada extracción tenía una duración de 15 horas aproximadamente y no se realizó continuamente, es decir, se interrumpía debido a la disponibilidad de los laboratorios de la Escuela de Química.

Otra razón para que los porcentajes de recuperación resultaran bajos es que se realizaron varios cambios de la columna y posiblemente se presentaron fugas de presión en el equipo. Al igual que se interrumpían las extracciones, también se interrumpían los análisis por disponibilidad de tiempo. El hacer unos ensayos un día y someter a cambios de detector para luego retornar a los ensayos, son razones que definitivamente influyeron en los resultados obtenidos.

8. CONCLUSIONES

- Se logró determinar la presencia de los plaguicidas Dichlorvos, Mevinphos, Demeton, Naled, Disulfoton, Methyl Parathion, Fenthion, Fensulfothion, Bolstar y Azinphos Methyl en las muestras de agua de escorrentía, obteniendo para siete de ellos una concentración menor a la del límite máximo permitido según el Decreto 3930 de 2010. Para los plaguicidas restantes se encontró que estos tienen una moderada persistencia en el ambiente, y, por lo tanto, no presentan un riesgo importante en la salud humana, ni para el medio ambiente en general.
- Igualmente, se logró determinar la presencia de plaguicidas en las muestras de suelo, los cuales fueron Dichlorvos, Demeton, Disulfoton, Methyl Parathion, Fensulfothion, Bolstar y Azinphos Methyl. En general, estos compuestos presentan estructuras químicas fácilmente degradables, y por lo tanto el impacto ambiental y el riesgo en la salud humana no es significativo.
- Según los parámetros de calidad el método para plaguicidas organofosforados con detector de captura electrónica ECD es recomendable, ya que se obtuvo un promedio de correlación lineal ≥ 0.99 y los LD, LC son adecuados para el análisis de trazas de plaguicidas organofosforados en muestras de suelo y de agua, además se obtuvo muy buena respuesta para cada uno de los plaguicidas en estudio.
- Se determinó que para los plaguicidas Dichlorvos, Mevinphos, Stirofos (Tetrachlorvinphos), el diclorometano es un excelente solvente de extracción, ya que para dos investigaciones realizadas en el corregimiento de La Florida de la ciudad de Pereira en muestras de agua por extracción líquido – líquido continuo presentaron porcentajes de recuperación entre 89.53 – 109.96%.
- En el análisis de plaguicidas mediante cromatografía de gases, es común encontrarse con variaciones en la respuesta inducidas por componentes de la matriz, en general estos fenómenos se caracterizan por aumentar la señal cromatográfica de algunos de los compuestos en estudio, tal como sucedió en la muestra de agua número dos.

9. RECOMENDACIONES

- Se recomienda utilizar una metodología alternativa de extracción que consuma una menor cantidad de solvente, como lo son: la microextracción en fase sólida y la SPE, ya que para la metodología usada en este estudio se necesitan volúmenes grandes de solventes para cada muestra a evaluar y tiempos de extracción demasiado largos para obtener mejores porcentajes de recuperación.
- Se recomienda tener en cuenta otras alternativas para el control de plagas las cuales impliquen reducción de los riesgos para los fumigadores y reducir el impacto de los agroquímicos sobre los ecosistemas locales, como lo son los bioplaguicidas, el control biológico y la alelopatía.
- Para obtener mejores porcentajes de recuperación para los compuestos que presentaron un porcentaje menor del 70%, tanto en la extracción líquido – líquido como en la extracción sólido – líquido, es tener utilizar otro tipo de solvente o mezcla de solventes que permita un adecuado análisis, como lo es el acetonitrilo del cual se obtuvieron mejores porcentajes de recuperación según la tesis evaluación del grado de contaminación por plaguicidas organofosforados del río Otún.
- Para la Asociación de Cebolleros se recomienda realizar monitoreos continuos para tomar medidas contundentes cuando se superan los límites de concentración y para que así se pueda encontrar una solución para minimizar el impacto de los plaguicidas sobre el ambiente.
- Realizar la matriz emparejada la cual consta en realizar patrones del estándar con solución blanco matriz para garantizar que las cantidades de interferencias por matriz sean iguales, aunque esto disminuye el tiempo de vida de las columnas cromatográficas es necesario debido a las interferencias que presentaron las muestras de Agua1 y Agua2 para el Azinphos Methyl.

10. BIBLIOGRAFÍA

- [1] Sonia Liliana Guzmán Vargas y Maria Teresa Palacios Lozano. Instrumentos de política para la gestión de servicios ecosistémicos en agroecosistemas cebolleros de la cuenca del río Otún, Colombia. Comunicación técnica. Recursos naturales y ambiente/no. 58
- [2] Mileydi Machado Mancilla. Planteamiento de un proceso para la conservación de la cebolla junca (*Allium Fistulosum Linnaeus*) mediante el método de deshidratación gravimétrica. [En línea] <<http://repositorio.utp.edu.co/dspace/bitstream/11059/2569/1/664805M149.pdf>> [Citado 4 de Diciembre de 2013].
- [3] Corpoica Asohofrucol. (2004) La cebolla de rama (*Allium fistulosum*) y su cultivo. Tibaitatá, Mosquera – Colombia. Páginas 6-36. Editorial produmedios.
- [4] Cabezas, G. M. (2005). Efecto de la fertilización con azufre en la cebolla de rama (*Allium fistulosum L.*), en el municipio de Carmen de Carupa, Cundinamarca. Universidad de ciencias aplicadas y ambientales. Revista Udca actualización y divulgación científica Vol 8 (No 2). Páginas 141-149.
- [5] Ambrosio Castellanos Castellanos, Pedro. Manejo integrado del cultivo de cebolla (*Allium Fistulosum*) para el departamento de Risaralda. Universidad de Caldas. Facultad de ciencias agropecuarias. [En línea]<www.agronet.gov.co> [Citado 4 de Diciembre 2013]
- [6] Infoagro. Cultivo de la cebolla: Plagas, enfermedades y fisiopatías en el cultivo de cebollas. [En línea] <<http://articulos.infojardin.com/huerto/cultivo-cebolla-cebollas.htm>> [Citado 4 de Diciembre de 2013].
- [7] Murcia, Alix Marcela., Stashenko, Elena. Determinación de plaguicidas organofosforados en vegetales producidos en Colombia. Universidad Industrial de Santander. (2008).
- [8] Juan Pablo Arrubla Vélez. (2012) Dinámica territorial en la cuenca media del río Otún y su incidencia en los procesos de contaminación emergente en aguas para consumo humano, Municipio de Pereira, Colombia. Propuesta de investigación doctoral en ciencias ambientales.

[9] Organización de las naciones unidas para la agricultura y la alimentación. FAO. (2000). Guidelines for integrated control of rice insect pests. Plant production and Protection Paper. (No.14) Página 115.

[10] Salazar, A. (2011) Revistas de ciencias biológicas y de la salud. HERBICIDA GLIFOSATO: USOS, TOXICIDAD Y REGULACIÓN. [En línea] <<http://www.biocetnia.uson.mx/revistas/articulos/16-BIO-11-DPA-04.pdf>> [Citado 5 de Diciembre 2013]

[11] Sergio Augusto Upegui Sosa. (2004) Evaluación de mezclas compost inmaduro/suelo de Moravia y fuentes de nutrientes para la degradación de los pesticidas Clorpirifos, Malatión y Metil Paratión.

[12] Angela Cristina Cardona Londoño y Luisa Fernanda Giraldo Tamayo (2008) Evaluación del grado de contaminación por pesticidas organofosforados de la cuenca del Río Otún, Departamento de Risaralda. Página 60. Universidad Tecnológica de Pereira.

[13] Diego Alejandro Mosquera Ayala (2012) Estandarización de un método para la cuantificación de pesticidas organoclorados y organofosforados en suelos por cromatografía de gases con detectores FID y ECD. Página 38. Universidad Tecnológica de Pereira.

[14] Plaguicidas y salud. Riesgos para la salud derivados del uso de los plaguicidas. [En línea] <<http://www.alu.ua.es/l/lmv5/RPS.html>> [Citado 5 de Diciembre 2013]

[15] Daños a la salud y al medio ambiente por el uso de plaguicidas. [En línea] <<http://www.slideshare.net/fundacionplagbol/danos-a-la-salud-y-al-medio-ambiente-por-el-uso-de-plaguicidas>> [Citado 5 de Diciembre 2013]

[16] Pinzón Ramírez, Hernán. La cebolla de rama (*Allium Fistulosum*) y su cultivo. (2004). CORPOICA, C.I. Tibaitatá. Mosquera. Colombia. [En línea] <http://books.google.com.co/books?id=zYbOhBknd_8C&printsec=frontcover&dq=la+cebolla+de+rama+y+su+cultivo&hl=es-419&sa=X&ei=-GxzU8OsB-PQsQT0p4Ew&ved=0CCwQ6AEwAA#v=onepage&q=la%20cebolla%20de%20rama%20y%20su%20cultivo&f=false> [Citado el 5 de Diciembre de 2013]

[17] Guzmán, S. L., Palacios, M. T. Instrumentos de política para la gestión de servicios ecosistémicos en agroecosistemas cebolleros de la cuenca del río Otún,

Colombia. Páginas 54 [En línea]
<http://web.catie.ac.cr/informacion/RFCA/rev58/rna_58Art_7pag51-58.pdf> [Citado 11 de Diciembre 2013]

[18] Sánchez, M. J., Sánchez, M. (1984). Los plaguicidas adsorción y evolución en el suelo. (1° ed.) Página 7. [En línea].
<<http://digital.csic.es/bitstream/10261/12919/1/plaguicidas.pdf>> [Citado 5 de Diciembre 2013]

[19] Stoorvogel, J., Jaramillo, R., Ramiro, M., Kosten, Sarian. PLAGUICIDAS EN EL MEDIO AMBIENTE. Páginas 111-150. [En línea]. <<http://edepot.wur.nl/38625>>

[20] Ramírez, J.A. & Lacasaña, M. (2001) Plaguicidas: clasificación, uso, toxicología y medición de la exposición. [En línea]
<<http://www.scsmt.cat/Upload/TextCompleto/2/1/216.pdf>> [Citado 5 de Diciembre 2013]

[21] WORLD HEALTH ORGANIZATION & FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF UNITED NATIONS. Codex Pesticides Residues in Food. [En línea] disponible en: <www.codexalimentarius.org/standards/pesticide-mrls/en/> [Citado el 14 de Diciembre de 2013]

[22] AUDITORÍA GENERAL DE LA REPUBLICA DE COLOMBIA. Auditoría analítica de gestión al uso y manejo de plaguicidas en Colombia. Bogotá. 2004.

[23] Hugo Fernando Arias Loaiza (2013) Estandarización de una metodología para la determinación multiresiduo de plaguicidas en café verde. Universidad Tecnológica de Pereira.

[24] Manual de instrucciones para la toma, preservación y transporte de muestras de agua para consumo humano para análisis de laboratorio. (2011). Artículo 27 Decreto 1575 2007.

[25] Document de método de extracción líquido-líquido. [En línea]
<http://ocw.unizar.es/ciencias-experimentales/tecnicas-basicas-de-laboratorio-quimico/teoria/Extraccion_teoría.pdf> [Citado 11 de Diciembre 2013]

[26] Universidad de Granada. Prácticas docentes en la Facultad de Ciencias. Extracción sólido-líquido y recuperación del disolvente: Obtención de aceite de girasol. [En línea] <<http://fciencias.ugr.es/practicadocentes/wp-content/uploads/guiones/ExtraccionSolidoLiquido.pdf>> [Citado 11 de Diciembre 2013]

[27] Daniel C. Harris. Análisis químico cuantitativo. (2003). Tercera edición. Página 359. [En línea] <http://books.google.com.co/books?id=H-_8vZYdL70C&pg=PA579&dq=procesos+de+separacion+cromatografia&hl=es-419&sa=X&ei=xvhvU4SjBerQsQSphIHQDQ&ved=0CCwQ6AEwAA#v=onepage&q=procesos%20de%20separacion%20cromatografia&f=false> [Citado 11 Diciembre 2013]

[28] Cromatografía de gases por Harold M. McNair. Department of Chemistry, College of Arts and Sciences, Virginia Polytechnic Institute and State University Blacksburg, Virginia. [En línea] <http://www.oc-praktikum.de/nop/es/articles/pdf/Chromatography_es.pdf> [Citado 12 de Diciembre 2013]

[29] N.H. Snow, en Modern Practice of Gas Chromatography, R.L. Grob y E. F. Barry (2004), 4a. ed., cap. 9, Nueva York: Wiley-Interscience.

[30] Douglas A. Skoog, Stanford University. F. James Holler, University of Kentucky. Stanley R. Crouch. Michigan State University.

[31] Miriam Barquero Quirós (1954) Principios y aplicaciones de la cromatografía de gases (Primera edición) Editorial UCR, San José, C.R. 2006 (10 Química)

[32] Guía de cromatografía. (2008). Universidad Central de Venezuela. Escuela de química. [En línea] <<http://www.ciens.ucv.ve:8080/generador/sites/LIApregrado/archivos/Guia%20para%20cromatografia.pdf>> [Citado el 14 de Diciembre de 2013]

[33] Miguel Pérez. Calidad y Prevención de Riesgos Laborales. Gestión de la calidad y prevención en la empresa. Reproducibilidad y repetitividad. [En línea] <<http://miquelpes.com/archives/141>> [Citado el 23 de Febrero 2014]

[34] QUATROCCHI Oscar Alberto, ANDRIZI Sara Abelaira, et al, Introducción a la HPLC aplicación y práctica. Vol 10. (1992), Argentina

[35] SKOOG, D. A., F.J. HOLLER & A.T. NIEMAN (2001) Principios de análisis instrumental. (Quinta edición) M.G. Hill. 2001, España, Páginas 755-760

[36] Michael Thompson, Stephen L.R. Elisson. Harmonised Guidelines for the use of recovery information in Analytical measurement (1999) [En línea] <<http://pac.iupac.org/publications/pac/pdf/1999/pdf/7102x0337.pdf>> [Citado el 24 de Febrero 2014]

[37] Ing. Ftal. Carlos Buduba. Laboratorio de suelos CIEFAP-UNPSJB. (2004). Muestreo de suelos. Criterios básicos. Ficha técnica. Patagonia Forestal. Año X N°1. Abril 2004. [En línea] <http://ciefap.org.ar/documentos/fichas/FTA10N1Muestreo_de_suelos.pdf> [Citado 24 de Febrero 2014]

[38] Instituto de Suelos y Agrotecnia. Instrucciones para tomar muestras de suelos. Ministerio de Agricultura de la Nación. Bs. As. 11p

[39] Límites de tolerancia para pesticidas. (2014). U.S. Environmental Protection [En línea] <<http://www.epa.gov/opp00001/regulating/tolerances-sp.html>> [Citado 24 de Febrero 2014]

[40] Ph. D. Jairo Arturo Guerrero D. Bogotá Abril 2010. Reducción del efecto matriz en el análisis de residuos de plaguicidas mediante cromatografía de gases. Universidad Nacional de Colombia.

[41] Evaluación del grado de contaminación por pesticidas organofosforados de la cuenca del Río Otún, Departamento de Risaralda. Página 60. Universidad Tecnológica de Pereira. (2008). [En línea]. <<http://repositorio.utp.edu.co/dspace/bitstream/11059/1781/1/62816842L847.pdf>> [Citado el 26 de Abril de 2014]

[42] Artículo 74 del Decreto 1594 de 1984. (Junio 26) [En línea] <<http://www.alcaldiabogota.gov.co/sisjur/normas/Norma1.jsp?i=18617>> [Citado el 26 de Abril del 2014]

[43] Fichas técnicas de plaguicidas a prohibir o restringir (RESSCAD). [En línea] <<file:///H:/FICHA%20TECNICAS%20PLAGUI.pdf>> [Citado el 27 de Abril de 2014]

[44], [38] Ficha técnica Azinfos Metilico [En línea] <http://www2.inecc.gob.mx/sistemas/plaguicidas/pdf/azinfos_metilico.pdf> [Citado el 1 de Mayo de 2014]

[45] Tabla de MRL en alimentos. Cebolla. The Japan food chemical research foundation.

[46] Kegley, S.E., Hill, B.R., Orme S., Choi A.H., *PAN Pesticide Database*, Pesticide Action Network, North America (San Francisco, CA, 2010), [En línea] < http://www.pesticideinfo.org/Detail_Chemical.jsp?Rec_Id=PC33348> [Citado el 28 de Abril 2014]

[47] Evaluación de contaminación del suelo. Manual de referencia. Depósito de documentos de la FAO. [En línea] < <http://www.fao.org/docrep/005/x2570s/X2570S11.htm>> [Citado el 28 de Abril de 2014]

[48] Papa, Lynn., Derosa, Christopher., Stara, Jerry. (1987). Metil Paration: Efectos sobre la salud y el ambiente. Metepec, México. Páginas 73. EPA. Centro Panamericano de ecología humana y salud, Organización Panamericana de la salud. Organización Mundial de la Salud. [En línea] < <http://www.bvsde.paho.org/bvsacd/eco/000849.pdf>> [Citado el 28 de Abril del 2014]

ANEXOS

Anexo 1. Resoluciones vigentes para el control de plaguicidas en Colombia

LEY, RESOLUCIÓN, DECRETO O ACUERDO #	AÑO DE EMISIÓN	ENTIDAD QUE EMITE	OBJETO DE LA NORMA
R-749	1979	Instituto Colombiano Agropecuario ICA	Cancela registro de venta de productos a base de 2,4,5-T y 2,4,5-TP
R-243	1982	Instituto Colombiano Agropecuario ICA	Prohíbe la producción, importación y venta de plaguicidas a base de Dibromocloropropano (DBCP)
R-1158	1985	Instituto Colombiano Agropecuario ICA	Prohíbe la producción, importación y venta de plaguicidas a base de Dibromuro de etileno (EBD)
R-1849	1985	Instituto Colombiano Agropecuario ICA	Prohíbe la producción, importación y venta de plaguicidas a base de Endrin
D-704	1986	Presidencia de la Republica	Prohíbe el uso de DDT, sus derivados y compuestos.
R-930	1987	Instituto Colombiano Agropecuario ICA	Prohíbe la producción, importación y venta de plaguicidas a base de Dinoseb
R-19408	1987	Ministerio de salud	Prohíbe el uso y manejo de los plaguicidas a base de Clordimefon y sus sales
D-305	1988	Presidencia de la Republica	Prohíbe la importación, producción y formulación de plaguicidas a base de aldrin, heptacloro, dieldrin, clordano y canfecloro.
R-47	1988	Instituto Colombiano Agropecuario ICA	cancela la licencia de venta de plaguicidas que contienen clordimeform en su composición
R-3028	1989	Instituto Colombiano Agropecuario ICA	prohíbe la aplicación por vía aérea en el territorio nacional de los herbicidas que contienen Paraquat
R-4863	1989	Instituto Colombiano Agriopecuario ICA	Cancela licencia de venta correspondiente al fungicida de uso agrícola denominado Dithane M-22 (Maneb)
R-5052	1989	Instituto Colombiano Agriopecuario ICA	Cancela licencias de venta a los plaguicidas de uso agrícola denominados Manzate D y Manzate.

Tabla 10. Resoluciones vigentes para control de plaguicidas en Colombia

LEY, RESOLUCIÓN, DECRETO O ACUERDO #	AÑO DE EMISIÓN	ENTIDAD QUE EMITE	OBJETO DE LA NORMA
R-5053	1989	Instituto Colombiano Agropecuario ICA	Prohíbe la importación, producción y venta de plaguicidas que contengan en su composición el ingrediente activo Captafol
R-2308	1990	Instituto Colombiano Agropecuario ICA	Prohíbe la importación, producción, venta y aplicación en el territorio nacional de los fungicidas que contengan Terbuconazol
D-1843	1991	Ministerio de Salud	Reglamenta parcialmente los títulos III, V, VI, VII y XI de la Ley 9 de 1979 sobre uso y manejo de plaguicidas con el objeto de evitar que afecten la salud de la comunidad, la sanidad animal y vegetal o causen deterioro al medio ambiente
R-2156	1991	Instituto Colombiano Agropecuario ICA	Cancela las Licencias de Venta de los insecticidas a base de LINDANO
R-2471	1991	Instituto Colombiano Agropecuario ICA	Restringe los usos de PARATHION, únicamente a plagas de algodón y pastos tecnificados y del METIL PARATHION únicamente a plagas del algodón y arroz tecnificado.
R-29	1992	Instituto Colombiano Agropecuario ICA	Prohíbe el uso de insecticidas para uso agrícola a base de Fonofos.
R-9913	1993	Ministerio de salud	Prohíbe la importación, producción y aplicación de los Fungicidas Maneb, Zineb y sus compuestos relacionados.
R-10255	1993	Ministerio de salud	Prohíbe la importación, producción, formulación, comercialización, uso y manejo de los siguientes productos: DIELDRIN, CLORDANO, DODECACLORO o MIREX, PENTACLOROFENOL, DICOFOL, DDT, BHC HEPTACLORO, LINDANO y sus compuestos relacionados usados contra la broca del café.
R-138	1996	Ministerio de salud	Prohíbe la importación, fabricación, comercialización y uso de los plaguicidas con base en Bromuro de Metilo, solo o en combinación.

Continuación de la tabla 10

LEY, RESOLUCIÓN, DECRETO O ACUERDO #	AÑO DE EMISIÓN	ENTIDAD QUE EMITE	OBJETO DE LA NORMA
R-1669	1997	Ministerio de salud	Por la cual se autoriza el uso de productos con base en ENDOSULFAN únicamente para el control de la broca del cafeto (<i>Hipotenemus hampei</i>).
R-1559	1999	Instituto Colombiano Agropecuuario ICA	Por la cual se cancela el registro de venta No. 0852 correspondiente al insecticida biológico denominado DIPEL WP.
R-1312	2001	Instituto Colombiano Agropecuuario ICA	Cancela registro de venta del producto Thionex 35 EC, formulado a base de endosulfan
R-1681	2002	Instituto Colombiano Agropecuuario ICA	suspender el registro de venta de los productos TESS 50 EW (deltametrin) y LARVIN 375 SC (tiodicarb)
R-1973	2004	Instituto Colombiano Agropecuuario ICA	Por la cual se cancela registro de venta al fungicida Benlate WP a base de Benomyl.
R-1756	2006	Instituto Colombiano Agropecuuario ICA	Por el cual se adopta el manual de procedimientos de regulación y control de plaguicidas químicos de uso agrícola.
R-2906	2007	Ministerio de la protección social	Establece los Límites Máximos de Residuos de Plaguicidas -LMR- en alimentos para consumo humano y en piensos o forrajes
R-228	2007	Instituto Colombiano Agropecuuario ICA	Por el cual se establecen obligaciones sobre la desnaturalización, almacenamiento y disposición final de desechos peligrosos e insumos agrícolas.
R-4754	2011	Instituto Colombiano Agropecuuario ICA	Por la cual se establecen requisitos para ampliación de uso de plaguicidas químicos de uso agrícola en cultivos menores.
R-5469	2012	Instituto Colombiano Agropecuuario ICA	Por el cual se establecen los requisitos para otorgar el registro de importador de plaguicidas de uso agrícola para uso directo.

Continuación de la tabla 10

Anexo 2. Certificado del estándar de plaguicidas organofosforados.



1. IDENTIFICATION

Catalog Number / Product Name: 32277, 32277-5XX, & 32377 / 8140/8141 OP Pesticide
Company: Calibration Mix A
Address: Restek Corporation
110 Benner Circle
Bellefonte, Pa. 16823
Phone#: 814-353-1300
Fax#: 814-353-1309
Emergency#: 800-356-1688
Revision Number: 7
Intended use: For Laboratory use only

2. HAZARD(S) IDENTIFICATION

Emergency Overview:

GHS Hazard Symbols:



GHS Classification:

Aspiration Hazard Category 1
Flammable Liquid Category 2
Skin Corrosion/Irritation Category 2
Reproductive Toxicity Category 2
Specific Target Organ Systemic Toxicity (STOT) - Repeated Exposure Category 2
Hazardous to the aquatic environment - Chronic Category 2
Specific Target Organ Systemic Toxicity (STOT) - Single Exposure Category 3
Flame
Health Hazard
Environment
Danger

GHS Signal Word:

GHS Hazard:

H225 - Highly flammable liquid and vapour.
H304 - May be fatal if swallowed and enters airways.
H315 - Causes skin irritation.
H336 - May cause drowsiness or dizziness.
H361f - Suspected of damaging fertility.
H373 - May cause damage to organs through prolonged or repeated exposure.
H411 - Toxic to aquatic life with long lasting effects.

GHS Precautions:

Safety Precautions:

P201 - Obtain special instructions before use.
P202 - Do not handle until all safety precautions have been read and understood.
P210 - Keep away from heat/sparks/open flames/hot surfaces. - No smoking.
P240 - Ground/bond container and receiving equipment.
P241 - Use explosion-proof electrical/ventilating and lighting equipment.
P242 - Use only non-sparking tools.
P243 - Take precautionary measures against static discharge.
P260 - Do not breathe dust/fume/gas/mist/vapours/spray.
P264 - Wash hands and skin thoroughly after handling.
P271 - Use only outdoors or in a well-ventilated area.
P273 - Avoid release to the environment.
P280 - Wear protective gloves/protective clothing/eye protection/face

protection.
P281 - Use personal protective equipment as required.

First Aid Measures:

P301+P310 - IF SWALLOWED: Immediately call a POISON CENTER/doctor/....
P302+P352 - IF ON SKIN: Wash with plenty of soap and water.
P303+P361+P353 - IF ON SKIN (or hair): Remove/Take off immediately all contaminated clothing. Rinse skin with water/shower.
P304+P340 - IF INHALED: Remove victim to fresh air and keep at rest in a position comfortable for breathing.
P308+P313 - IF exposed or concerned: Get medical advice/attention.
P312 - Call a POISON CENTER or doctor/physician if you feel unwell.
P314 - Get medical advice/attention if you feel unwell.
P321 - Specific treatment see section 4.
P331 - Do NOT induce vomiting.
P332+P313 - If skin irritation occurs: Get medical advice/attention.
P362 - Take off contaminated clothing and wash before reuse.
P370+P378 - In case of fire: Use extinguishing media in section 5 for extinction.
P391 - Collect spillage.

Storage:

P403+P233 - Store in a well-ventilated place. Keep container tightly closed.
P403+P235 - Store in a well-ventilated place. Keep cool.
P405 - Store locked up.

Disposal:

P501 - Dispose of contents/container according to section 13 of the SDS.

Single Exposure Target Organs:

No data available.

Repeated Exposure Target Organs:

No data available.

Physical Hazards:

F - Highly flammable

Health Hazards:

Xn - Harmful

3. COMPOSITION / INFORMATION ON INGREDIENTS

Chemical Name	CAS #	EINEC #	% Composition
hexane	110-54-3	203-777-6	94.620000
Acetone	67-64-1	200-662-2	4.980000

4. FIRST-AID MEASURES

Inhalation: Remove to fresh air. If breathing is difficult, have a trained individual administer oxygen. If not breathing, give artificial respiration and have a trained individual administer oxygen. Get medical attention immediately.

Eyes: Flush eyes with plenty of water for at least 20 minutes retracting eyelids often. Tilt the head to prevent chemical from transferring to the uncontaminated eye. Get immediate medical attention.

Skin Contact: Wash with soap and water. Remove contaminated clothing and launder. Get medical attention if irritation develops or persists.

Ingestion: Do not induce vomiting and seek medical attention immediately. Drink two glasses of water or milk to dilute. Provide medical care provider with this SDS.

5. FIRE- FIGHTING MEASURES

Extinguishing Media: Use alcohol resistant foam, carbon dioxide, or dry chemical extinguishing agents. Water spray or fog may also be effective for extinguishing if swept across the base of the fire. Water can also be used to absorb heat and keep exposed material from being damaged by fire.

Fire and/or Explosion Hazards: Vapors may be ignited by heat, sparks, flames or other sources of ignition at or above the low flash point giving rise to a Class B fire. Vapors are heavier than air and may travel to a source of ignition and flash back.

Fire Fighting Methods and Protection: Do not enter fire area without proper protection including self-contained toxic breathing apparatus and full protective equipment. Fight fire from a safe distance and a protected location due to the potential of hazardous vapors and decomposition products. Flammable component(s) of this material may be lighter than water and burn while floating on the surface. Use water spray/fog for cooling.

Hazardous Combustion Products: Carbon dioxide, Carbon monoxide

6. ACCIDENTAL RELEASE MEASURES

Personal Precautions and Equipment: Exposure to the spilled material may be irritating or harmful. Follow personal protective equipment recommendations found in Section 8 of this SDS. Additional precautions may be necessary based on special circumstances created by the spill including; the material spilled, the quantity of the spill, the area in which the spill occurred. Also consider the expertise of employees in the area responding to the spill.

Methods for Clean-up: Prevent the spread of any spill to minimize harm to human health and the environment if safe to do so. Wear complete and proper personal protective equipment following the recommendation of Section 8 at a minimum. Dike with suitable absorbent material like granulated clay. Gather and store in a sealed container pending a waste disposal evaluation.

7. HANDLING AND STORAGE

Handling Technical Measures and Precautions: Harmful or irritating material. Avoid contacting and avoid breathing the material. Use only in a well ventilated area. Use spark-proof tools and explosion-proof equipment

Storage Technical Measures and Conditions: Store in a cool dry ventilated location. Isolate from incompatible materials and conditions. Keep container(s) closed. Keep away from sources of ignition

8. EXPOSURE CONTROLS / PERSONAL PROTECTION

United States:

Chemical Name	CAS No.	IDLH	ACGIH STEL	ACGIH TLV-TWA	OSHA Exposure Limit
hexane	110-54-3	1100 ppm IDLH (10% LEL)	1000 ppm	50 ppm TWA	500 ppm TWA; 1800 mg/m ³ TWA
Acetone	67-64-1	2500 ppm IDLH (10% LEL)	750 ppm STEL; 1782 mg/m ³ STEL	500 ppm TWA; 1188 mg/m ³ TWA	1000 ppm TWA; 2400 mg/m ³ TWA

United Kingdom:

Chemical Name	CAS No.	EINEC No.	WEL-STEL	WEL-TWA
hexane	110-54-3	203-777-6	60 ppm STEL (calculated); 216 mg/m ³ STEL (calculated)	20 ppm TWA; 72 mg/m ³ TWA
Acetone	67-64-1	200-662-2	1500 ppm STEL; 3620 mg/m ³ STEL	500 ppm TWA; 1210 mg/m ³ TWA

Personal Protection:

Engineering Measures:

Local exhaust ventilation is recommended when generating excessive levels of vapors from handling or thermal processing.

Respiratory Protection:

Respiratory protection may be required to avoid overexposure when handling this product. General or local exhaust ventilation is the preferred means of protection. Use a respirator if general room ventilation is not available or sufficient to eliminate symptoms.

Eye Protection:

Wear chemically resistant safety glasses with side shields when handling this product. Do not wear contact lenses.

Skin Protection:

Wear protective gloves. Inspect gloves for chemical break-through and replace at regular intervals. Clean protective equipment regularly. Wash hands and other exposed areas with mild soap and water before eating, drinking, and when leaving work

9. PHYSICAL AND CHEMICAL PROPERTIES

Odor:	Mild
pH:	No data available.
Vapor Density:	2.97 (air = 1)
Melting Point:	-95 °C Melting Point
Flash Point:	-8
Flammability:	Highly Flammable

Specific Gravity: 0.672 g/cm3 at 15 °C
 Evaporation Rate: No data available.
 Odor Threshold: ND
 Solubility: Negligible; 0-1%
 VOC % by weight: 0.00
 Molecular Weight: 58.08

10. STABILITY AND REACTIVITY

Stability: Stable under normal conditions.
 Materials to Avoid / Chemical Incompatibility: Strong oxidizing agents Strong acids
 Hazardous Decomposition Products: Carbon dioxide Carbon monoxide

11. TOXICOLOGICAL INFORMATION

Routes of Entry: Inhalation Contact Absorption Ingestion
 Target Organs Potentially Affected By Exposure: Eyes, Central nervous system stimulation,
 Respiratory Tract, Skin, Peripheral Nervous System
 Chemical Interactions That Change Toxicity: None Known

Immediate (Acute) Health Effects by Route of Exposure:

Inhalation Irritation: Can cause severe respiratory irritation, dizziness, weakness, fatigue, nausea, headache and possible unconsciousness.
 Skin Contact: Can cause moderate skin irritation, defatting, and dermatitis. Not likely to cause permanent damage.
 Skin Absorption: May cause irritation and minor systemic damage. Harmful if absorbed through the skin.
 Eye Contact: Can cause moderate irritation, tearing and reddening, but not likely to permanently injure eye tissue.
 Ingestion Irritation: Irritating to mouth, throat, and stomach. Can cause abdominal discomfort, nausea, vomiting and diarrhea. Harmful if swallowed.
 Ingestion Toxicity: Toxic if swallowed. May cause target organ failure and/or death.

Long-Term (Chronic) Health Effects:

Carcinogenicity: Contains a probable or known human carcinogen.
 Reproductive and Developmental Toxicity: No data available to indicate product or any components present at greater than 0.1% may cause birth defects.
 Inhalation: Upon prolonged and/or repeated exposure, can cause severe respiratory irritation, dizziness, weakness, fatigue, nausea, headache and possible unconsciousness.
 Skin Contact: Upon prolonged or repeated contact, can cause moderate skin irritation, defatting, and dermatitis. Not likely to cause permanent damage.
 Skin Absorption: Upon prolonged or repeated exposure, harmful if absorbed through the skin. May cause minor systemic damage.

Component Toxicological Data:

NIOSH:

Chemical Name	CAS No.	LD50/LC50
Hexane	110-54-3	Inhalation LC50 Rat 48000 ppm 4 h; Oral LD50 Rat 25 g/kg; Dermal LD50 Rabbit 3000 mg/kg
Acetone	67-64-1	Oral LD50 Rat 5800 mg/kg

Component Carcinogenic Data:

OSHA:

Chemical Name	CAS No.	
No data available.		

 ACGIH:

Chemical Name	CAS No.	
Acetone	67-64-1	A4 - Not Classifiable as a Human Carcinogen

NIOSH:

Chemical Name	CAS No.
No data available.	

NTP:
 Chemical Name CAS No.
 No data available.

IARC:
 Chemical Name CAS No. Group No.
 No data. Group 1
 No data. Group 2A
 Dichlorvos 62-73-7 Group 2B

12. ECOLOGICAL INFORMATION

Overview: Moderate ecological hazard. This product may be dangerous to plants and/or wildlife.
 Mobility: No data
 Persistence: No data
 Bioaccumulation: No data
 Degradability: No data
 Ecological Toxicity Data: No data available.

13. DISPOSAL CONSIDERATIONS

Waste Description of Spent Product: Spent or discarded material is a hazardous waste.
 Disposal Methods: Dispose of by incineration following Federal, State, Local, or Provincial regulations.
 Waste Disposal of Packaging: Comply with all Local, State, Federal, and Provincial Environmental Regulations.

14. TRANSPORTATION INFORMATION

United States:
 DOT Proper Shipping Name: Flammable liquids, n.o.s. (Hexane, Acetone)
 UN Number: UN1993
 Hazard Class: 3
 Packing Group: II

International:
 IATA Proper Shipping Name: Flammable liquids, n.o.s. (Hexane, Acetone)
 UN Number: UN1993
 Hazard Class: 3
 Packing Group: II

Marine Pollutant: No

15. REGULATORY INFORMATION

United States:	CAS#	CERCLA	SARA 313	SARA EHS 313	TSCA
hexane	110-54-3	X	X	-	X
Acetone	67-64-1	X	-	-	X

The following chemicals are listed on CA Prop 65:

Chemical Name	CAS #	Regulation
Dichlorvos	62-73-7	Prop 65 Cancer
Ethoprop	13194-48-4	Prop 65 Cancer

State Right To Know Listing:

Chemical Name	CAS#	New Jersey	Massachusetts	Pennsylvania	California
hexane	110-54-3	X	X	X	-
Acetone	67-64-1	X	X	X	X

EU Directives Classification:

Hazard Symbols:





Risk Phrases: R21/22 - Harmful in contact with skin and if swallowed
R48/20 - Harmful: danger of serious damage to health by prolonged exposure through inhalation
R11 - Highly flammable

Safety Phrases: S2:Keep out of reach of children
S9:Keep container in a well ventilated place
S16:Keep away from sources of ignition - No smoking
S29:Do not empty into drains
S33:Take precautionary measures against static discharges
S36/37:Wear suitable protective clothing and gloves
S61:Avoid release to the environment. Refer to special instructions/Safety data sheet
S62:If swallowed, do not induce vomiting : seek medical advice immediately and this container or label

16. OTHER INFORMATION

Prior Version Date: 09/15/10

Disclaimer: Restek Corporation provides the descriptions, data and information contained herein in good faith but makes no representation as to its comprehensiveness or accuracy. It is provided for your guidance only. Because many factors may affect processing or application/use, Restek Corporation recommends you perform an assessment to determine the suitability of a product for your particular purpose prior to use. No warranties of any kind, either expressed or implied, including fitness for a particular purpose, are made regarding products described, data or information set forth. In no case shall the descriptions, information, or data provided be considered a part of our terms and conditions of sale. Further, the descriptions, data and information furnished hereunder are given gratis. No obligation or liability for the description, data and information given are assumed. All such being given and accepted at your risk.

RESTEK CERTIFIED REFERENCE MATERIAL

110 Benner Circle
 Bellefonte, PA 16823-8812
 Tel: (800)356-1688
 Fax: (814)353-1309

www.restek.com

Certificate of Analysis



FOR LABORATORY USE ONLY-READ SDS PRIOR TO USE.

This Reference Material is intended for Laboratory Use Only as a standard for the qualitative and/or quantitative determination of the analyte(s) listed.

Catalog No. : 32277 Lot No.: A097148

Description : 8140/8141 OP Pesticide Calibration Mix A
8140/8141 OP Pesticide Calibration Mix A 200µg/mL, Hexane/Acetone (80:20), 1mL/ampul

Container Size : 2 mL Pkg Amt: > 1 mL

Expiration Date : August 31, 2014 Storage: 10°C or colder

Handling: This product is photosensitive

CERTIFIED VALUES

Elution Order	Compound	Grav. Conc. (weight/volume)	Expanded Uncertainty (95% C.L.; K=2)			
1	Dichlorvos (DDVP)	199.9 µg/mL	+/-	1.4176	µg/mL	Gravimetric
	CAS # 62-73-7 (Lot 1517200)		+/-	7.3016	µg/mL	Unstressed
	Purity 98%		+/-	7.3019	µg/mL	Stressed
2	Mevinphos (phosdrin)	200.7 µg/mL	+/-	1.4231	µg/mL	Gravimetric
	CAS # 7786-34-7 (Lot 00413)		+/-	7.3298	µg/mL	Unstressed
	Purity 94%		+/-	7.3300	µg/mL	Stressed
3	Demeton O & S	200.6 µg/mL	+/-	1.4221	µg/mL	Gravimetric
	CAS # 8065-48-3 (Lot 1640500)		+/-	7.3250	µg/mL	Unstressed
	Purity 92% 72% S-Demeton; 28% O-Demeton		+/-	7.3253	µg/mL	Stressed
4	Ethoprophos	200.0 µg/mL	+/-	1.4182	µg/mL	Gravimetric
	CAS # 13194-48-4 (Lot 1726600)		+/-	7.3046	µg/mL	Unstressed
	Purity 99%		+/-	7.3048	µg/mL	Stressed
5	Naled	199.9 µg/mL	+/-	1.4176	µg/mL	Gravimetric
	CAS # 300-76-5 (Lot 1247000)		+/-	7.3016	µg/mL	Unstressed
	Purity 98%		+/-	7.3019	µg/mL	Stressed
6	Phorate	199.9 µg/mL	+/-	1.4176	µg/mL	Gravimetric
	CAS # 298-02-2 (Lot 1626600)		+/-	7.3016	µg/mL	Unstressed
	Purity 98%		+/-	7.3019	µg/mL	Stressed
7	Diazinon	200.0 µg/mL	+/-	1.4182	µg/mL	Gravimetric
	CAS # 333-41-5 (Lot 1493900)		+/-	7.3046	µg/mL	Unstressed
	Purity 99%		+/-	7.3048	µg/mL	Stressed
8	Disulfoton	200.0 µg/mL	+/-	1.4182	µg/mL	Gravimetric
	CAS # 298-04-4 (Lot 1588100)		+/-	7.3046	µg/mL	Unstressed
	Purity 99%		+/-	7.3048	µg/mL	Stressed

9	Methyl parathion		200.0	µg/mL	+/-	1.4182	µg/mL	Gravimetric
	CAS # 298-00-0	(Lot 1545000)			+/-	7.3046	µg/mL	Unstressed
	Purity 99%				+/-	7.3048	µg/mL	Stressed
10	Fenchlorphos (Ronnel)		199.9	µg/mL	+/-	1.4176	µg/mL	Gravimetric
	CAS # 299-84-3	(Lot 852400)			+/-	7.3016	µg/mL	Unstressed
	Purity 98%				+/-	7.3019	µg/mL	Stressed
11	Fenthion		199.8	µg/mL	+/-	1.4169	µg/mL	Gravimetric
	CAS # 55-38-9	(Lot SZBC178XV)			+/-	7.2980	µg/mL	Unstressed
	Purity 97%				+/-	7.2982	µg/mL	Stressed
12	Chlorpyrifos (Dursban)		200.0	µg/mL	+/-	1.4182	µg/mL	Gravimetric
	CAS # 2921-88-2	(Lot 1694000)			+/-	7.3046	µg/mL	Unstressed
	Purity 99%				+/-	7.3048	µg/mL	Stressed
13	Trichloronate		199.9	µg/mL	+/-	1.4176	µg/mL	Gravimetric
	CAS # 327-98-0	(Lot 1386400)			+/-	7.3016	µg/mL	Unstressed
	Purity 98%				+/-	7.3019	µg/mL	Stressed
14	Merphos		200.5	µg/mL	+/-	1.4214	µg/mL	Gravimetric
	CAS # 150-50-5	(Lot RM01539)			+/-	7.3210	µg/mL	Unstressed
	Purity 95%				+/-	7.3213	µg/mL	Stressed
15	Stirofos (tetrachlorvinphos)		200.3	µg/mL	+/-	1.4203	µg/mL	Gravimetric
	CAS # 961-11-5	(Lot 444-14B)			+/-	7.3157	µg/mL	Unstressed
	Purity 97%				+/-	7.3160	µg/mL	Stressed
16	Tokuthion (prothiofos)		200.0	µg/mL	+/-	1.4180	µg/mL	Gravimetric
	CAS # 34643-46-4	(Lot 1415900)			+/-	7.3037	µg/mL	Unstressed
	Purity 95%				+/-	7.3039	µg/mL	Stressed
17	Fensulfothion		200.2	µg/mL	+/-	1.4197	µg/mL	Gravimetric
	CAS # 115-90-2	(Lot 1252100)			+/-	7.3126	µg/mL	Unstressed
	Purity 94%				+/-	7.3129	µg/mL	Stressed
18	Bolstar (sulprofos)		200.5	µg/mL	+/-	1.4214	µg/mL	Gravimetric
	CAS # 35400-43-2	(Lot 798500)			+/-	7.3210	µg/mL	Unstressed
	Purity 95%				+/-	7.3213	µg/mL	Stressed
19	Azinphos methyl (guthion)		200.2	µg/mL	+/-	1.4193	µg/mL	Gravimetric
	CAS # 86-50-0	(Lot 1259200)			+/-	7.3104	µg/mL	Unstressed
	Purity 96%				+/-	7.3107	µg/mL	Stressed
20	Coumaphos		200.0	µg/mL	+/-	1.4182	µg/mL	Gravimetric
	CAS # 56-72-4	(Lot 789400)			+/-	7.3046	µg/mL	Unstressed
	Purity 99%				+/-	7.3048	µg/mL	Stressed
Solvent:		Hexane/Acetone (80:20)						
		CAS # 110-54-3/67-64-1						
		Purity 99%						
Specific Reference Material Notes:								
* Reported as summation of Merphos and oxidation product of Merphos.								

General Certified Reference Material Notes

Expiration Notes:

- Expiration date valid for unopened ampul stored in compliance with the recommended conditions.
- Uncertainty, concentration, and expiration of the CRM are based on the unopened product being stored according to the recommended condition found in the storage field.

Purity Notes:

- Purity and/or chemical identity are determined by one or more of the following techniques: GC/FID, HPLC, GC/μECD, GC/MS, LC/MS, RI, and/or melting point.
- Compounds with a listed purity of less than 99% have been weight corrected to compensate for impurities and/or salts. A correction factor is used to calculate the amount of compound necessary to achieve the desired concentration of the parent compound in solution.
- Purity of isomeric compounds is reported as the sum of the isomers.
- Purity values are rounded to the nearest whole number.

Certified Uncertainty Value Notes:

- The uncertainties are determined in accordance with ISO Guides 34 and 35. The certified combined stressed uncertainty value (includes gravimetric uncertainty, homogeneity between-ampul uncertainty, storage stability uncertainty and shipping stability uncertainty and were combined using the following formula:

$$U_{combined\ stressed} = k \sqrt{U_{gravimetric}^2 + U_{homogeneity}^2 + U_{storage\ stability}^2 + U_{shipping\ stability}^2}$$

k is a coverage factor of 2, which gives a level of confidence of approximately 95%.

- It is important to note that the shipping stability uncertainty was obtained under temperature extremes for specific time intervals; therefore, the certified combined stressed uncertainty value should only be applied to the product if it was stored at non-standard temperature conditions up to and including 7 days. Contact Restek Technical Service at www.restek.com/Contact-Us for use recommendations if your shipment was in-transit for more than 7 days at non-standard temperature conditions.
- Apply the certified combined unstressed uncertainty value if the product was received under standard shipping conditions. Apply the certified combined stressed uncertainty value if the product was received under non-standard conditions as specified below.

Label Conditions	Standard Conditions	Non-Standard Conditions
25°C Nominal (Room Temperature)	< 60°C	≥ 60°C up to 7 days
10°C or colder (Refrigerate)	< 40°C	≥ 40°C up to 7 days
0°C or colder (Freezer)	< 25°C	≥ 25°C up to 7 days

- Separate (not combined) uncertainty values for gravimetric uncertainty are also displayed on the certificate, if needed, separate homogeneity between-ampul uncertainty, storage stability uncertainty and shipping stability uncertainty values are available by contacting Restek Technical Service at www.restek.com/Contact-Us.
- The packaged amount is the minimum sample size for which uncertainty is valid. The ampules are over-filled to ensure that the minimum packaged amount can be sufficiently transferred.

Manufacturing Notes:

- Concentration is based upon gravimetric preparation using either a balance whose calibration has been verified daily using NIST traceable weights, and/or dilutions with Class A glassware.

Handling Notes:

- Samples should be transferred into deactivated vials for handling and storage. Restek supplies deactivated vials along with most standards packed in 2 mL ampules. Due to space constraints, Restek does not supply vials for larger volume ampules. Restek sells DMDCS for the purpose of glassware deactivation as catalog number 31840, which includes complete instructions. Restek will also deactivate larger volume vials from our inventory as a custom ordered item. Contact your Restek sales or customer service representative for details.
- If any undissolved material is visible inside the ampul, sonicate the unopened ampul until the material is completely dissolved.

Tech Tips:

Reported as summation of Merphos and oxidation product of Merphos.

Column:
30m x .25mm x .25um
Rtx-5 (cat.#10223)

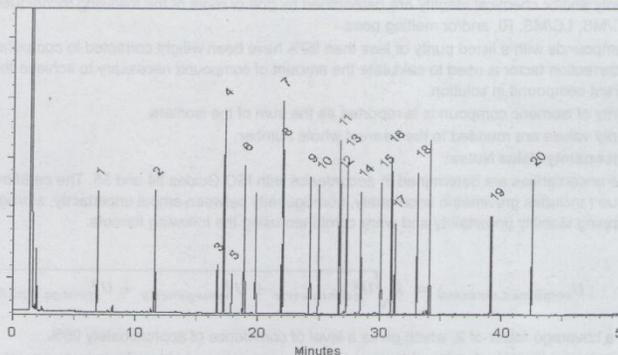
Carrier Gas:
hydrogen-constant pressure 10 psi.

Temp. Program:
100°C (hold 1 min.) to 330°C
@ 4°C/min. (hold 5 min.)

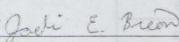
Inj. Temp:
250°C

Det. Temp:
330°C

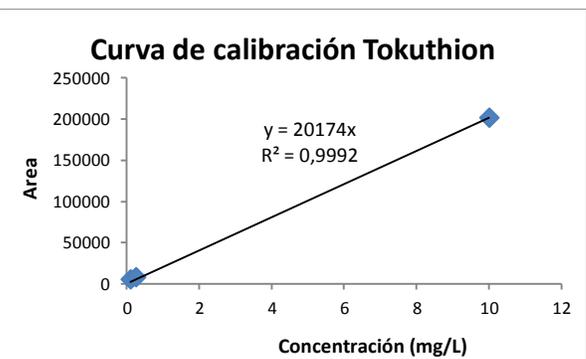
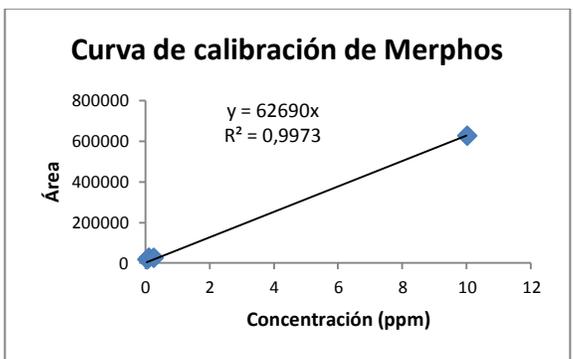
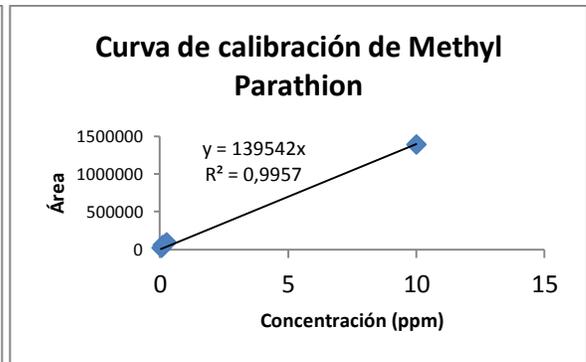
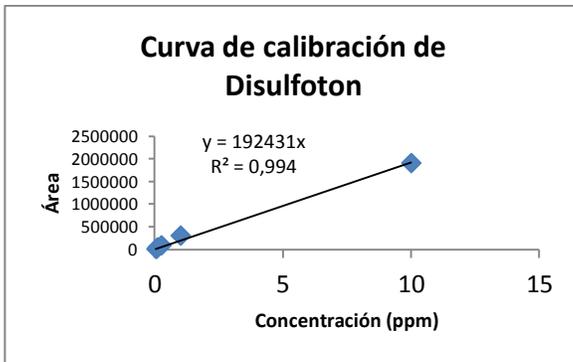
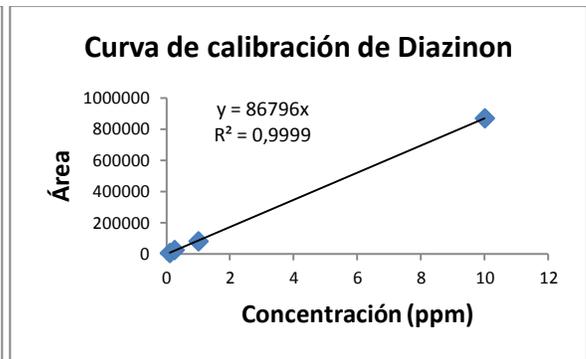
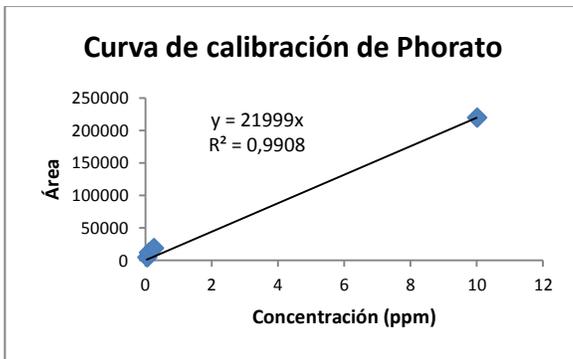
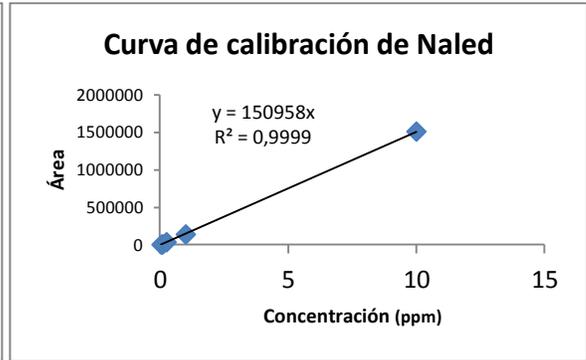
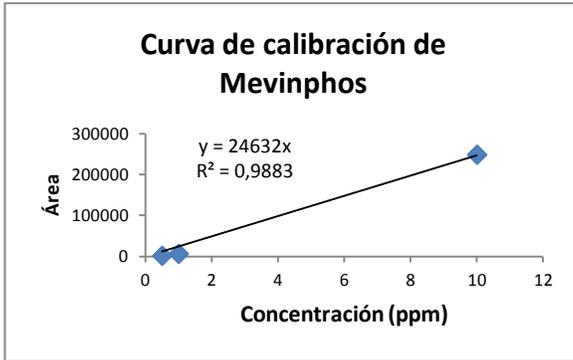
Det. Type:
FID

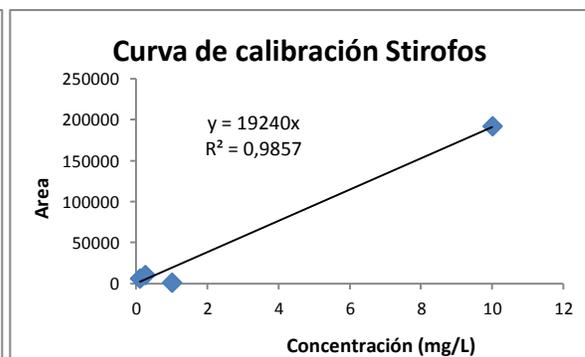
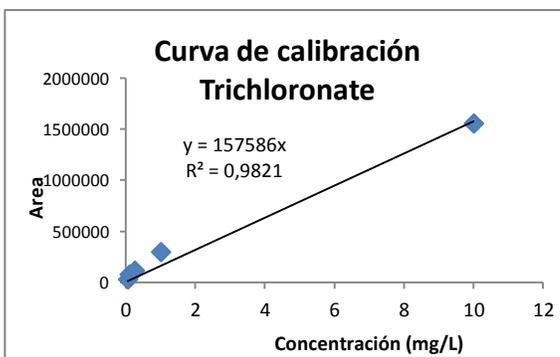
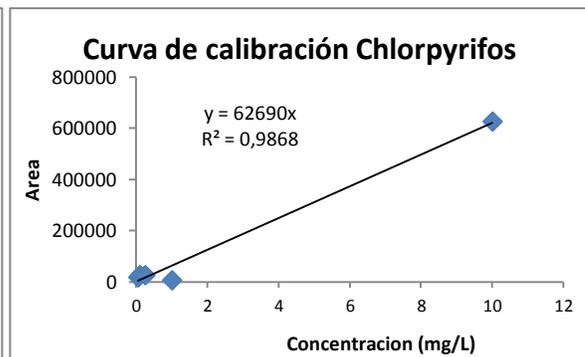
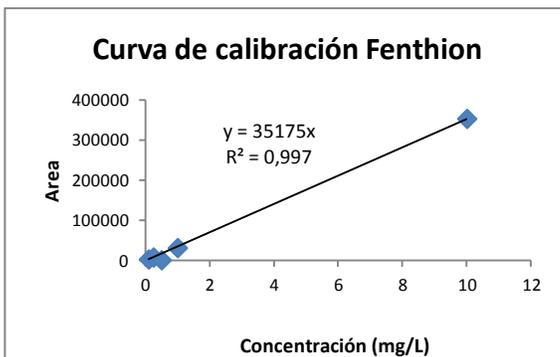
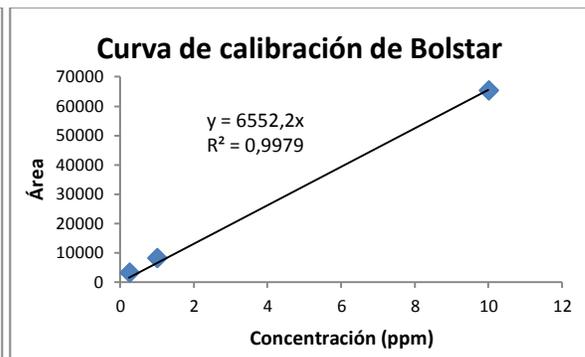
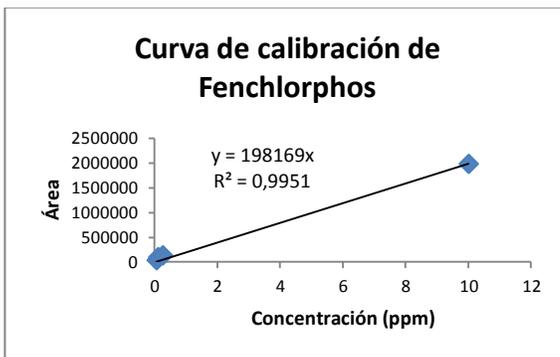
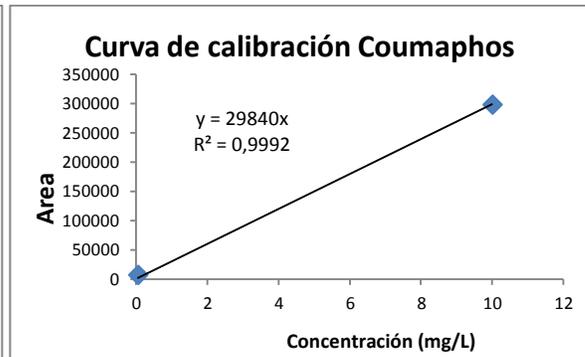
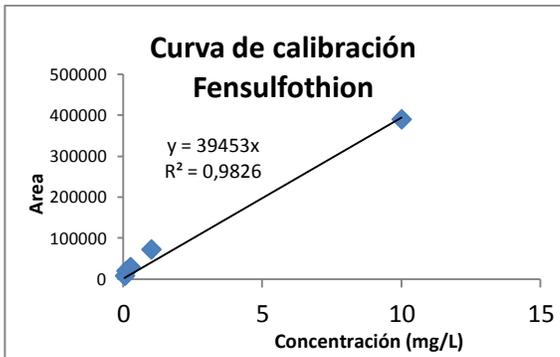


This chromatogram represents a general set of testing conditions chosen to guarantee product quality. For optimal results in your lab, conditions should be adjusted for your specific instrument, method, and application.

 F. Joseph Tallon - Mix Technician	Date Mixed: 06-Aug-2013	Balance: B251644995
 Jodi E. Breon - QA Analyst	Date Passed: 15-Aug-2013	Manufactured under Restek's ISO 9001:2008 Registered Quality System Certificate #FM 80397

Anexo 3. Curvas de calibración de diferentes plaguicidas





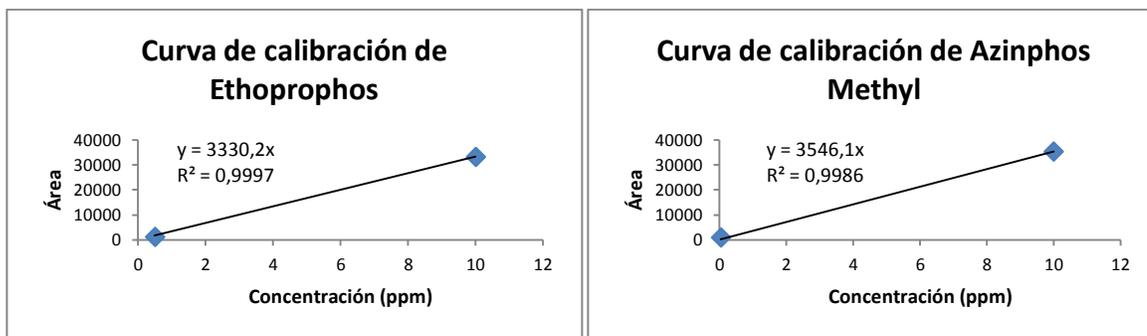


Figura 30. Curvas de calibración para los diferentes plaguicidas

Anexo 4. Porcentaje de recuperación de agua para los plaguicidas organofosforados.

Compuesto	Porcentaje de recuperación Agua (%)
3.Demeton O & S	11.17
8.Disulfoton	22.76
9.Methyl parathion	38.74
10.Fenclorphos (Ronnel)	11.50
11. Fenthion	42.40
13. Trichloronate	26.97
16.Tokuthion (prothiofos)	38.67
18. Bolstar	172.75
19.Azinphos methyl (guthion)	155.66

Tabla 11. Porcentajes de recuperación de agua

Anexo 5. Porcentaje de recuperación de suelo para los plaguicidas organofosforados.

Compuesto	Porcentaje de recuperación Suelo (%)
1.Dichlorvos	177.44
3.Demeton O & S	32.00
9.Methyl parathion	12.52
10.Fenclorphos (Ronnel)	22.94
11. Fenthion	33.47
13. Trichloronate	43.26
14. Merphos	174.45
19.Azinphos methyl (guthion)	37.97

Tabla 12. Porcentajes de recuperación de suelo.

Anexo 6

Plaguicida	Área patrón	Área muestra real Agua 1	Área muestra real Agua 2	Área muestra real Suelo 1	Área muestra real suelo 2
Dichlorvos	22493891.3	139882.4	197175.8	87533.7	34225.7
Mevinphos	3854777.5	20259.8	ND	ND	ND
Demeton	3458585.0	173993.7	1096289.9	65442.9	ND
Naled	8327663.3	109837.3	218118.9	ND	ND
Disulfoton	22267826.0	312600.7	133305.9	1256311.2	1040072.4
Methyl Parathion	15230568.1	376491.8	146267.7	903642.3	204845.8
Fenthion	2631672.0	53291.0	181175.8	ND	ND
Fensulfothion	6216912.5	7691157.3	65525.9	262632.1	ND
Bolstar	8327663.3	258216.1	590583.0	301055.1	115529.9
Azinphos Methyl	3462024.6	854451.3	2415513.4	95919.9	1862856.1

Tabla 13. Comparación de áreas de los patrones y las muestras reales