

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DEL LITORAL



**FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MATEMÁTICAS
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS QUÍMICAS Y AMBIENTALES**

PROYECTO DE TITULACIÓN

PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE:

**“MAGÍSTER EN GESTIÓN INTEGRAL DE LABORATORIOS DE
QUÍMICA”**

TEMA:

**VALIDACIÓN DE UN MÉTODO ANALÍTICO CROMATOGRÁFICO
APLICADO A LA DETERMINACIÓN DE PESTICIDAS
ORGANOCORADOS TOTALES EN SUELOS, ACORDE A LA
NORMA ISO 17025**

AUTOR:

GIANELLA YASMÍN BONIFAS GÓMEZ

Guayaquil - Ecuador

2023

RESUMEN

En este estudio, se desarrolló y validó un método modificado para la determinación de pesticidas organoclorados totales en suelos agrícolas. El método se basó en la adaptación del protocolo EPA METHOD 8081B, complementado con una modificación del procedimiento QuEChERS para la preparación de muestras, seguido del análisis de los compuestos mediante cromatografía de gases con detector de captura de electrones (GC-ECD).

Los resultados obtenidos en este estudio demostraron un desempeño satisfactorio del método desarrollado. Las recuperaciones de los pesticidas se situaron en un rango del 82% al 96%, con coeficientes de variación que oscilaron entre el 5% y el 21% para muestras fortificadas en un intervalo de concentración de 0.05 a 0.25 mg/kg. Los límites de detección y cuantificación fueron establecidos en 0.02 y 0.05 mg/kg, respectivamente. Además, se confirmó la linealidad del método mediante un análisis de varianza (ANOVA) entre las curvas de calibración en matriz y en solvente, obteniendo en ambos casos coeficientes de determinación R^2 superiores a 0.98.

Este enfoque analítico combina las ventajas de un método de extracción simplificado y rápido, lo que representa una mejora en la eficiencia de los análisis. Es importante destacar que, a pesar de no emplear el detector de masas, que es común en estos tipos de estudios, el uso del detector de captura de electrones ha demostrado ser efectivo y prometedor, proporcionando resultados favorables en la detección de pesticidas organoclorados totales en suelos agrícolas.

Palabras clave: Pesticidas organoclorados, suelos agrícolas, validación de método, cromatografía de gases, detector de captura de electrones, QuEChERS, límite de detección, linealidad.

ABSTRACT

In this study, a modified method for the determination of total organochlorine pesticides in agricultural soils was developed and validated. The method was based on the adaptation of EPA METHOD 8081B protocol, supplemented with a modification of the QuEChERS sample preparation procedure, followed by compound analysis using gas chromatography with electron capture detection (GC-ECD).

The results obtained in this study demonstrated satisfactory performance of the developed method. Recoveries of pesticides ranged from 82% to 96%, with coefficients of variation ranging from 5% to 21% for fortified samples in a concentration range of 0.05 to 0.25 mg/kg. Detection and quantification limits were established at 0.02 and 0.05 mg/kg, respectively. Furthermore, the linearity of the method was confirmed through an analysis of variance (ANOVA) between calibration curves in matrix and solvent, with coefficients of determination R^2 exceeding 0.98 in both cases.

This analytical approach combines the advantages of a simplified and rapid extraction method, representing an improvement in analysis efficiency. It is important to note that, despite not using mass spectrometry, which is common in these types of studies, the use of electron capture detection has proven to be effective and promising, providing favorable results in the detection of total organochlorine pesticides in agricultural soils.

Keywords: Organochlorine pesticides, agricultural soils, method validation, gas chromatography, electron capture detection, QuEChERS, detection limit, linearity.

DEDICATORIA

La presente tesis está dedicada a mis padres Allinson y Ricardo que sin su apoyo y confianza no hubiese sido capaz de llegar tan lejos, Giancarlo mi hermano quien con su espíritu alegre siempre ilumina mis días, a mi tía Aurora quien ha sido como una madre para mí, una mención especial a mi pareja Sergio quien estuvo en los momentos más difíciles de este proceso siempre apoyándome y dándome aliento y finalmente pero no menos importante a mi pequeña mascota Appa, mi fiel compañero, quien me ha brindado de varios momentos de alegría y felicidad.

“Hasta que no hayas amado a un animal, una parte de tu alma permanecerá dormida”

Anatole France

AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios por todas las oportunidades que me ha brindado, y reconozco que culminar esta etapa profesional es una de las más importantes de ellas.

A mi amada familia, les agradezco de todo corazón por su constante apoyo durante este arduo trayecto. Su aliento y respaldo han sido fundamentales en mi camino hacia la culminación de este trabajo.

A mi estimado tutor, el PhD. Joan Vera, le agradezco por compartir sus vastos conocimientos y por su orientación invaluable a lo largo de este período. Sus enseñanzas y guía han sido fundamentales para mi crecimiento académico y profesional.

Quiero hacer una mención especial al PhD. Joel Vielma, quien no solo me impulsó a explorar nuevas áreas de investigación, sino que también compartió valiosos consejos que enriquecieron este trabajo. Además, agradezco a la MsC. Nadia Flores, quien ha sido una fuente constante de inspiración y apoyo, desde mis estudios de grado hasta este posgrado.

En conjunto, su respaldo, sabiduría y aliento me han llevado hasta este momento de logro y crecimiento. Estoy profundamente agradecido por su influencia en mi vida y en mi desarrollo académico.

.

DECLARACIÓN EXPRESA

La responsabilidad por los hechos y doctrinas expuestas en este Proyecto de Titulación me corresponde exclusivamente y ha sido desarrollado respetando derechos intelectuales de terceros conforme las citas que constan en el documento, cuyas fuentes se incorporan en las referencias o bibliografías. Consecuentemente este trabajo es de mi total autoría. El patrimonio intelectual del mismo corresponde exclusivamente a la ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DEL LITORAL.

En virtud de esta declaración, me responsabilizo del contenido, veracidad y alcance del Trabajo de Titulación referido.

Gianella Yasmín Bonifas Gómez

TRIBUNAL DE GRADUACIÓN

PhD. Joel Vielma Puente
PRESIDENTE

PhD. Joan Vera Ramos
TUTOR

Msc. Nadia Flores Manrique
DOCENTE EVALUADOR

ABREVIATURAS O SIGLAS

| | |
|----------|--|
| ESPOL | Escuela Superior Politécnica del Litoral |
| QuEChERS | Quick Easy Cheap Effective Rugged Safe |
| ppb | Partes por billón |
| ppm | Partes por millón |

Tabla de contenido

| | |
|--|----|
| CAPÍTULO 1 | 1 |
| 1. Introducción | 1 |
| 1.1. Antecedentes | 1 |
| 1.2. Descripción del problema | 2 |
| 1.3. Objetivos | 3 |
| 1.3.1. Objetivo General | 3 |
| 1.3.2. Objetivos Específicos | 3 |
| 1.4. Hipótesis | 3 |
| 1.5. Alcance | 3 |
| CAPÍTULO 2 | 5 |
| 2. Marco teórico | 5 |
| 2.1. Suelos | 5 |
| 2.2. Pesticidas | 5 |
| 2.2.1. Clasificación de los pesticidas | 5 |
| 2.2.2. Pesticidas organoclorados | 6 |
| 2.2.3. Efecto de los pesticidas en los suelos | 7 |
| 2.3. Normativa ambiental vigente | 8 |
| 2.4. Método de extracción | 8 |
| 2.5. Determinación analítica | 9 |
| 2.6. Validación de métodos analíticos | 10 |
| 2.7. Validación del método y criterios de identificación | 11 |
| CAPÍTULO 3 | 13 |
| 3. METODOLOGÍA | 13 |
| 3.1. Reactivos y materiales | 13 |
| 3.1.1. Reactivos químicos | 13 |
| 3.1.2. Materiales y equipos | 13 |
| 3.2. Toma de muestra | 13 |
| 3.3. Procedimiento de extracción | 14 |
| 3.3.1. Tratamiento de muestra | 14 |
| 3.4. Condiciones de operación del cromatógrafo de gases | 15 |
| 3.5. Esquema de Validación | 15 |
| 3.5.1. Herramientas estadísticas | 16 |
| 3.5.1.1. Media aritmética | 17 |
| 3.5.1.2. Desviación estándar | 17 |

| | | |
|------------------|--|----|
| 3.5.1.3. | Coeficiente de variación..... | 17 |
| 3.5.1.4. | Varianza..... | 17 |
| 3.5.1.5. | Porcentaje de recuperación..... | 18 |
| 3.5.1.6. | ANOVA | 18 |
| CAPÍTULO 4 | | 19 |
| 4. | Criterios de aceptación de una validación..... | 19 |
| 4.1. | Datos obtenidos de la validación | 19 |
| 4.1.1. | Selectividad..... | 19 |
| 4.1.2. | Linealidad..... | 21 |
| 4.1.3. | Análisis de blancos..... | 23 |
| 4.1.4. | Precisión y Exactitud | 23 |
| CAPÍTULO 5 | | 26 |
| 5. | CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES..... | 26 |
| 6. | Referencias | 1 |
| 7. | Apéndices y anexos..... | 2 |

LISTADO DE FIGURAS

| | |
|---|----|
| Figura 1. Criterios de Remediación o Restauración de suelos. [Fuente: TULSMA, 2019] | 8 |
| Figura 2. Diagrama de flujo del proceso de extracción de QuEChERS modificado [Fuente: Gianella Bonifas, 2022] | 15 |
| Figura 3. Cromatograma de muestra fortificada [Fuente: Gianella Bonifas, 2023] | 19 |
| Figura 4. Cromatograma de muestra blanco (libre de pesticidas) [Fuente: Gianella Bonifas, 2023]..... | 19 |
| Figura 5. ANOVA Curva en matriz vs Curva en solvente [Fuente: Gianella Bonifas, 2023] | 21 |
| Figura 6. ANOVA pendientes de las curvas de calibración en matriz y solvente [Fuente: Gianella Bonifas, 2023] | 21 |
| Figura 7. Trompeta de Horwitz [Fuente: Comisión del Codex Alimentarius, 2009] | 24 |

LISTADO DE TABLAS

| | |
|---|--|
| Tabla 1. Alcance de pesticidas acorde al método [Fuente: EPA Method 8081 B]...3 | |
| Tabla 2. Clasificación de pesticidas [Fuente: WHO Recommended Clasification of Pesticides by Hazard and Guidelines to Classification, 2009].....6 | |
| Tabla 3. Clasificación de pesticidas acorde a su tiempo de vida media. [Fuente: Ramírez, J.A y Lascaña, 2014].....7 | |
| Tabla 4. Condiciones de operación del equipo [Fuente: Gianella Bonifas, 2022]..15 | |
| Tabla 5. Detalle del esquema de validación [Fuente: Gianella Bonifas, 2022].....16 | |
| Tabla 6. Parámetros de estudio dentro de la validación [Fuente: Gianella Bonifas, 2022]16 | |
| Tabla 7. Criterios de aceptación del método19 | |
| Tabla 8. Cálculo del Límite de detección y límite de cuantificación [Fuente: Gianella Bonifas 2023]23 | |
| Tabla 9. Datos de coeficiente de variación y recuperación para muestras fortificadas. [Fuente: Gianella Bonifas, 2023].....23 | |
| Tabla 10. Datos para análisis de pendientes en curvas de calibración4 | |
| Tabla 11. Datos para fortificados 14 | |
| Tabla 12. Datos para fortificados 25 | |

CAPÍTULO 1

1. Introducción

1.1. Antecedentes

Uno de los principales objetivos de toda empresa es asegurar la calidad de sus productos; dentro de los laboratorios químicos ocurre algo similar ya que su propósito es garantizar la fiabilidad de sus resultados. Los métodos analíticos validados son capaces de proporcionar resultados confiables y precisos para el propósito deseado, siendo esto de suma importancia, ya que múltiples decisiones se basan en la información que estos brindan.

Para asegurar la calidad de los datos obtenidos a partir de los análisis, es mandatorio la validación de los métodos, que, en conjunto con distintas actividades enfocadas en el control y aseguramiento de la calidad, permiten a los laboratorios presentar resultados fiables. Debido a esto, la validación de métodos analíticos es un elemento primordial de las medidas que todo laboratorio debe implementar [1].

La realidad es que entre las entidades que ofrecen servicios de ensayo, calibración, se encuentran aquellas que tan solo por tener técnicos avanzados y ciertos equipos se consideran aptos para prestar sus servicios de manera segura pero la realidad no es necesariamente esa. Cuando una empresa se plantea contratar servicios para ensayos prefiere contar con las máximas garantías, por eso se prefiere contratar laboratorios acreditados. Los métodos y procedimientos que se ejecutan en un laboratorio sin acreditación no brindan suficiente confianza, ya que las actividades no se encuentran bajo riguroso control. Queda tan solo tener confianza personal, en las declaraciones del laboratorio y esto dista mucho de la definición de la competencia técnica de este [2-3].

La competencia técnica de un laboratorio es un factor crucial al momento de ser escogido para la realización de análisis, ya que los fabricantes, proveedores, exportadores o clientes se fijarán en esta cualidad antes de realizar cualquier decisión. Esto permite al cliente asegurarse de que sus

productos cumplen con criterios específicos, reduciendo costos y aumentando la aceptación de los productos en el mercado internacional. Por ende, para cumplir con los estándares de calidad y aumentar la confianza en los clientes es necesario que los laboratorios sean acreditados [3].

1.2. Descripción del problema

La validación permite alcanzar objetivos técnicos y de igual manera cumplir con requisitos legales, ya que los laboratorios se encuentran sometidos ante regulaciones; el Servicio de Acreditación Ecuatoriana (SAE) establece como uno de los requisitos generales “Tener implementado un sistema de gestión de la calidad en su organización, de conformidad con la norma respectiva” [4].

La norma para laboratorios de ensayo y calibración es la norma ISO 17025, misma que establece que los laboratorios deben validar todos los métodos que se empleen ya sean estos desarrollados a nivel interno u obtenidos a través de fuentes externas. A pesar de que la técnica empleada para la detección de pesticidas en suelos y aguas se considere como oficial, es necesario cerciorarse de que sea replicable bajo las condiciones del laboratorio. [5]

Un ligero cambio dentro del procedimiento puede alterar la obtención de resultados. La validación es una exigencia de calidad dentro de la industria química, ya que permite incrementar la seguridad en la calidad de los productos, brindando mayor seguridad y confianza a los clientes. Esto se ve reflejado en una mayor productividad.

Es conocido que el costo de una validación es elevado, pero no debe ser considerado como un gasto sino más bien como una inversión, ya que al tener una alta confiabilidad en los datos obtenidos se ahorran insumos en la repetición de análisis. Desde el punto de vista económico y científico, la aplicación y validación de un método analítico que permita la obtención de resultados confiables en la primera corrida representa un gran logro.

Uno de los análisis más importantes y de mayor cuidado son los de cuantificación de principios activos ya que suelen ser técnicas que requieren de una mayor cantidad de tiempo y cuidado para de tal manera obtener resultados veraces. La separación de un analito es de suma importancia dentro de cualquier procedimiento analítico, recomendándose las técnicas

cromatográficas ya que poseen una gran sensibilidad y una fácil adaptación a determinaciones cuantitativas. [6]

El presente trabajo servirá como una herramienta para el aseguramiento de la calidad del producto brindando confianza al cliente ya que los resultados obtenidos a través de la técnica empleada serán veraces. Se hace hincapié hacia la preferencia de la cromatografía de gases acoplada a masas debido a su alta sensibilidad, fácil adaptación a determinaciones cuantitativas, permitiendo que este estudio sea viable ya que en las instalaciones del laboratorio cuenta con los equipos e instrumentos necesarios.

1.3. Objetivos

1.3.1. Objetivo General

Validar un método analítico para la detección de pesticidas organoclorados totales en suelos mediante cromatografía de gases con detector de captura de electrones.

1.3.2. Objetivos Específicos

- Determinar cuantitativamente la presencia de pesticidas organoclorados totales en suelos mediante cromatografía de gases con detector de captura de electrones.
- Desarrollar el protocolo de implementación de la validación del método analítico.

1.4. Hipótesis

El método ha desarrollarse para la detección de pesticidas en suelos cumple con los requisitos de la norma ISO 17025.

1.5. Alcance

Este es un estudio preliminar que permitirá la acreditación de este método el cual se puede utilizar para los siguientes compuestos RCRA que ya han sido determinados previamente por dicho método utilizando un sistema de análisis de una o dos columnas:

Tabla 1. Alcance de pesticidas acorde al método [Fuente: EPA Method 8081 B]

| COMPUESTO | CAS REGISTRY NO. |
|------------------|---------------------------------|
| ALDRIN | 309-00-2 |

| | |
|---|------------|
| A-BHC | 319-84-6 |
| B-BHC | 319-85-7 |
| Y-BHC | 58-89-9 |
| O-BHC | 319-86-8 |
| CIS-CHLORDANE | 5103-71-9 |
| TRANS-CHLORDANE | 5103-74-2 |
| CHLORDANE (NO ESTÁ ESPECIFICADO DE OTRA MANERA) | 57-74-9 |
| CLOROBENZILATE | 510-15-6 |
| 1,2-DIBROMO-3-CLOROPROPANE (DBCP) | 96-12-8 |
| 4,4'-DDD | 72-54-8 |
| 4,4'-DDE | 72-55-9 |
| 4,4'-DDT | 50-29-3 |
| DIALLATE | 2303-16-4 |
| DIELDRIN | 60-57-1 |
| ENDOSULFAN I | 959-98-8 |
| ENDOSULFAN II | 33213-65-9 |
| ENDOSULFAN SULFATE | 1031-07-8 |
| ENDRIN | 72-20-8 |
| ENDRIN ALDEHYDE | 7421-93-4 |
| ENDRIN KETONE | 53494-70-5 |
| HEPTACHLOR | 76-44-8 |
| HEPTACHLOR EPOXIDE | 1024-57-3 |
| HEXACHLORO BENZENE | 118-74-1 |
| HEXACHLOROCYCLOPENTADIENE | 77-47-4 |
| ISODRIN | 465-73-6 |
| METHOXYCHLOR | 72-43-5 |
| TOXAPHENE | 8001-35-2 |

CAPÍTULO 2

2. Marco teórico

2.1. Suelos

La palabra suelo tiene múltiples significados, tradicionalmente se lo define como aquel medio natural para el crecimiento de las plantas. Se lo conoce también como un cuerpo natural conformado por capas compuestas de minerales meteorizados, material orgánico, agua y aire; debido a esto contiene distintas partículas cuyo tamaño oscila entre 1 a 2000 milimicras. El suelo es en sí, el producto final de la influencia del tiempo combinado con distintos factores, como lo pueden ser la topografía, el clima y diferentes organismos (flora, fauna y el ser humano) [7-8].

2.2. Pesticidas

Acorde a la Organización las Naciones Unidas para la Alimentación y Agricultura conocida por sus siglas en inglés FAO, se define como pesticida a aquella mezcla/sustancia, empleada con la finalidad de atraer, repeler, prevenir o destruir plagas, incluyendo especies invasoras, ya sean estas animales o plantas durante los distintos procesos de procesamiento, producción, almacenamiento, logísticos y comercialización de alimentos. El uso e incorporación de estos químicos han dado paso a la disminución en las pérdidas de producto, ya sea por enfermedades o pestes, a través del pasar del tiempo, brindando así un mejor rendimiento [9].

2.2.1. Clasificación de los pesticidas

Según la Organización Mundial de la Salud, conocida por sus siglas en inglés WHO, los pesticidas se pueden clasificar en tres distintas categorías, por su uso, su principio activo y toxicidad.

Tabla 2. Clasificación de pesticidas [Fuente: WHO Recommended Clasification of Pesticides by Hazard and Guidelines to Classification, 2009]

| Clase | Toxicidad | $LD_{50} \left(\frac{mg}{kg} \right)$ |
|------------------|---------------------------|--|
| Clase IA | Extremadamente peligrosos | 0 – 5 |
| Clase IB | Altamente peligrosos | 5 – 50 |
| Clase II | Moderadamente peligrosos | 50 – 500 |
| Clase III | Ligeramente peligrosos | > 500 |

Se otorga la definición de toxicidad a la aptitud innata de un químico que tiene el objetivo de ocasionar efectos nocivos sobre un órgano. Se detallan distintos tipos de niveles de toxicidad, en los cuales se es posible evaluar los efectos que causan los plaguicidas al estar expuestos o en interacción con el ambiente o los seres vivos. Acorde a ls literatura se conoce que la dosis letal o LD_{50} , es aquella dosis capaz de causar una mortalidad del 50% en una población animal. Aquella sustancia química que posea una toxicidad alta es decir un LD_{50} bajo, es considerada potente [10].

2.2.2. Pesticidas organoclorados

Los pesticidas organoclorados se identifican por ser los empleados en las industrias, tienen un tiempo de vida muy largo y cuentan con un tiempo de vida media de cinco años. Además, poseen una biodegradabilidad lenta. Se los clasifica acorde a su tiempo de vida media, tal como se muestra en la Tabla 3 [11].

Tabla 3. Clasificación de pesticidas acorde a su tiempo de vida media. [Fuente: Ramírez, J.A y Lascaña, 2014]

| PERSISTENCIA | VIDA MEDIA | EJEMPLOS |
|----------------------------------|---------------------------|--|
| NO PERSISTENTE | De días hasta 12 semanas | Malatión, diametrín |
| MODERADAMENTE PERSISTENTE | De 1 a 18 meses | Paratión, lannate |
| PERSISTENTE | De varios meses a 20 años | DDT, aldrín, dieldrín |
| PERMANENTES | Indefinido | Productos de mercurio, plomo, arsénico |

Estos compuestos provocan daños en el suelo, ya que en su aplicación se presenta un contacto directo con los cultivos. Sus impactos negativos se ven reflejados en la productividad del suelo, ya que la reducen al alterar sus propiedades químicas.

2.2.3. Efecto de los pesticidas en los suelos

Uno de los efectos principales de los pesticidas son el desbalance en la naturaleza, ya que son capaces de causar desequilibrio en sistemas ecológicos, es decir, que la flora, fauna y microbiota presente en el suelo se ve alterada por la introducción de los plaguicidas [11].

Los pesticidas presentan contacto con el suelo debido a los distintos tratamientos como lo son, el aéreo, directo o por residuos vegetales yacentes en los cultivos, debido a que el suelo es una superficie con contacto directo de los pesticidas en el momento de la cosecha.

La permanencia de estos depende directamente de sus propiedades fisicoquímicas, de igual manera de las características del suelo y las condiciones ambientales. El actuar de los plaguicidas llega a causar la reducción de la actividad enzimática, siendo ese un factor decisivo dentro de las reacciones bioquímicas como la mineralización de la materia orgánica, reacciones redox, etc. [12].

La determinación y cuantificación de pesticidas en el suelo es de suma importancia, ya que la contaminación proveniente de estos llega a los alimentos debido a la aplicación directa. Algunos tienen un tiempo de vida media de hasta 30 años y los cultivos llegan a absorber estos compuestos, siendo los

pesticidas organoclorados lo que presentan un alto riesgo ya su eliminación es muy complicada, persistiendo por más tiempo en el suelo.

2.3. Normativa ambiental vigente

La normativa nacional vigente es el Texto Unificado de Legislación Secundario de Medio Ambiente conocido por sus siglas TULSMA, donde indican los criterios de remediación o restauración para suelos. Esto con el propósito de establecer los niveles de concentración máxima permisible de contaminantes en el suelo. En este documento se plantea que el límite máximo permisible para pesticidas organoclorados es de 0.1 mg/kg.

Figura 1. Criterios de Remediación o Restauración de suelos. [Fuente: TULSMA, 2019]

...Continuación

| Sustancia | Unidades (Concentración en Peso Seco) | USO DEL SUELO | | | |
|--|--|---------------|-------------|-----------|------------|
| | | Agrícola | Residencial | Comercial | Industrial |
| Naftaleno | mg/kg | 0.1 | 0.6 | 22 | 22 |
| Pirenos | mg/kg | 0.1 | 10 | 10 | 10 |
| Hidrocarburos Clorinados | | | | | |
| Bifenilospoliclorados (PCBs) total | mg/kg | 0.5 | 1.3 | 33 | 33 |
| Clorinados Alifáticos (cada uno) | mg/kg | 0.1 | 5 | 50 | 50 |
| Clorobencenos (cada uno) | | 0.05 | 2 | 10 | 10 |
| Tetracloroetilenos | mg/kg | 0.1 | 0.2 | 0.5 | 0.6 |
| Tricloroetileno | mg/kg | 0.1 | 3 | 30 | 30 |
| Pesticidas organoclorados y sus Metabolitos totales | mg/kg | 0.1 | 0.1 | 0.1 | 0.1 |
| Aldrin | | | | | |
| Dieldrin | | | | | |
| Clordano | | | | | |
| DDT(total) ¹ | | | | | |
| Endosulfan (total) ² | | | | | |
| Endrin (total) ³ | mg/kg | 0.01 | 0.01 | 0.01 | 0.01 |
| Heptacloro ⁴ | mg/kg | 0.01 | 0.01 | 0.01 | 0.01 |
| Hexaclorociclohexano (todos los isómeros) ⁵ | mg/kg | 0.01 | 0.01 | 0.01 | 0.01 |
| Atrazina | mg/kg | 0.005 | 0.005 | 0.005 | 0.005 |
| Carbofuran | mg/kg | 0.01 | 0.01 | 0.01 | 0.01 |
| Orgánicos Misceláneos | | - | - | - | - |
| Alifáticos no Clorinados (cada uno) | mg/kg | 0.3 | - | - | - |

2.4. Método de extracción

QuEChERS es un método de extracción muy empleado dentro de análisis de pesticidas, su nombre se debe a las siglas de las palabras en inglés quick, easy, cheap, effective, rugged and safe, que en su traducción al español significan, fácil, económico, efectivo, robusto y seguro. Dicho método fue desarrollado en Estados Unidos con el objetivo de determinar trazas de pesticidas en vegetales y frutas de manera rápida y sencilla [13].

Este método se fundamenta en la combinación de dos fases siendo estas la de extracción y limpieza. El proceso de extracción comienza empleando un disolvente miscible (acetona o acetonitrilo) en agua con una pequeña cantidad

de muestra. Luego se procede a la adición de sales (sulfato magnésico o cloruro de sodio) ya que esto da paso a la separación del líquido en dos fases, donde ocurre el traspaso del pesticida a la fase orgánica.

Es importante conocer la matriz de estudio, la naturaleza del disolvente, las sales empleadas y el pH debido a que factores críticos en lo que a eficacia de extracción se refiere.

Una vez culminada la extracción se procede con la limpieza, misma que consiste en el descarte de agua y purificación. Esto se realiza a través de extracción en fase sólida dispersiva (dSPE), dicho proceso consiste en la adición un adsorbente (suele ser una amina primaria/secundaria conocida como PSA, para evadir las interferencias debido a la matriz) y un agente desecante [14].

2.5. Determinación analítica

La cromatografía de gases (GC) es una de las principales técnicas para obtener la separación y análisis de varios compuestos volátiles. Es un proceso activo vinculado con una sucesión de particiones de muestra entre dos fases (fase móvil y fase estacionaria). Es decir que, los componentes con distintos puntos de ebullición, polaridad y propiedades de adsorción son capaces de disociarse de manera efectiva acorde a la diferencia entre sus constantes de distribución.

El proceso que se lleva en la cromatografía de gases comienza con la vaporización de la muestra, seguido se introduce en la corriente de gas portador, mismo que suele nitrógeno, helio o hidrógeno. Luego dicho gas portador, también llamado fase móvil, toma la muestra que pasa a través de la columna cromatográfica, en la que se limita la fase estacionaria. A una correcta temperatura, los componentes de la muestra son capaces de separarse en la fase estacionaria y se incorporan a la fase móvil mediante un equilibrio dinámico, acto seguido residen en la columna en una secuencia misma que depende las presiones de vapor y afinidades relativas para la fase estacionaria. Después de que ocurre la separación, los componentes individuales se llevan al detector, en el que las señales se registran y se presentan a manera de un cromatograma [15].

Actualmente el detector de captura de electrones o por sus siglas en inglés ECD (Electron Capture Detector) es uno de los más empleados dentro del análisis de muestras medioambientales, gracias a su selectividad al momento de detectar compuestos halogenados, como es el caso de los pesticidas. Este detector es capaz de trabajar inclusive en condiciones muy bajas (ppb y ppm) sin afectar su efectividad. Este equipo actúa como un contador de escala para las mediciones de rayos X. El eluyente de la columna pasa a través de un emisor β , generalmente ^{63}Ni . Un electrón del emisor ioniza el gas portador y crea una explosión de electrones. Esta ionización, privada de compuestos orgánicos, resulta en una corriente constante entre un par de electrodos. Sin embargo, la corriente se reduce significativamente en presencia de moléculas orgánicas que tienden a capturar electrones. El detector de captura de electrones tiene una reacción selectiva, muy sensible a moléculas que contienen grupos funcionales electronegativos como halógenos, peróxidos, quinonas y grupos nitro; más bien, es insensible a grupos funcionales como aminas, alcoholes e hidrocarburos. Una aplicación importante de los detectores de captura electrónicos es la detección e identificación de insecticidas clorados. Además, es muy sensible y tiene la ventaja de no perturbar significativamente la muestra. Por otro lado, su rango de respuesta lineal está limitado a uno o dos órdenes de magnitud [16].

2.6. Validación de métodos analíticos

La inserción de métricas de calidad ha permitido que tanto las empresas públicas como privadas se comprometan de mayor manera con la gestión integral de documentos, así como con la selección y validación de métodos analíticos. Estos pueden adquirirse a partir de métodos estándar emitidos por una organización acreditada o directrices nacionales y/o internacionales que conduzcan a la estandarización, o a su vez pueden resultar de métodos modificados o propios de cada laboratorio [17].

La validación de métodos analíticos es el primer nivel de garantía de calidad para un laboratorio. La definición de validación según ISO es "confirmación mediante pruebas y proporcionando evidencia objetiva de que el cumple con los requisitos específicos de un uso particular". La validación del método es

necesaria para "confirmar la idoneidad de un método analítico particular", es decir, para demostrar que el "procedimiento del método definido se aplica a un tipo particular de matriz" y a una tasa de concentración definida del analito: todo se denomina "sistema analítico adecuado para un propósito analítico dado". Este objetivo de análisis refleja el logro de resultados analíticos con un nivel aceptable de precisión. Un resultado analítico siempre debe ir siempre acompañado de una declaración de incertidumbre, que determina la interpretación del resultado. En otras palabras, la interpretación y el uso de cualquier medida depende completamente de la incertidumbre (hasta cierto grado de confianza) que la acompaña. Siendo así la validación el instrumento empleado para demostrar que un método analítico en particular realmente mide lo que se supone que debe medir y, por lo tanto, es adecuado para su propósito.

2.7. Validación del método y criterios de identificación

El método de detección de pesticidas por cromatografía de gases con detector de captura de electrones (GC/ECD), se validó a través del estudio de los siguientes parámetros: linealidad, efecto matriz, precisión (repetibilidad), veracidad (recuperaciones medias) y límites de cuantificación (LOQ), mismos que se redactan a continuación.

- **Linealidad:** Es la capacidad de obtener resultados proporcionales a la concentración del analito en la muestra. La verificación de este parámetro se llevó a cabo mediante el análisis de soluciones patrón con concentraciones de pesticidas de 0.05, 0.1, 0.20 y 0.25 $\mu\text{g}/\text{Kg}$.
- **Efecto matriz:** Proviene del cambio de la señal de analito debido a la interferencia de los componentes de la matriz, dependiente o independientemente de la concentración de analito en la muestra. Para la verificación este parámetro se decidió realizar una curva de tanto en disolvente como en matriz.
- **Precisión:** El grado de concordancia entre un grupo de resultados obtenidos cuando el mismo método analítico se aplica repetidamente a diferentes porciones de la misma muestra. Este parámetro se expresa como desviación estándar (SD) o desviación estándar relativa (RSD).
- **Veracidad:** La veracidad es la concordancia entre la media y el valor real. Se define la autenticidad como la cercanía entre la media obtenida de una

serie de resultados y el valor de referencia o real. La veracidad se evalúa midiendo la recuperación. Para determinar la validez del experimento, se realizaron estudios de recuperación a tres niveles de concentración (0.05, 0.20 y 0.25 $\mu\text{g}/\text{Kg}$).

- **Límites de cuantificación:** Es la concentración más baja de analito que se puede cuantificar confiablemente aplicando el método analítico completo.

CAPÍTULO 3

3. METODOLOGÍA

La siguiente investigación tuvo un enfoque cuantitativo. Más, sin embargo, se emplearon otros métodos como lo son el documental, analítico y estadístico.

3.1. Reactivos y materiales

3.1.1. Reactivos químicos

Los patrones estándar empleados para los 20 pesticidas poseían una pureza mayor al 96%, fueron suministrados por Sigma-Aldrich y almacenados a -30°C . Las soluciones patrón individuales de los pesticidas se prepararon con acetonitrilo como disolvente, estos fueron almacenados en viales de vidrio ámbar con tapón de rosca.

Los disolventes utilizados en el análisis cromatográfico fueron acetonitrilo de grado pesticida acidificado con ácido fórmico al 1% y agua tipo I. Los reactivos utilizados para el procedimiento de extracción (QuEChERS) fueron: cloruro de sodio y sulfato de sodio anhidro.

3.1.2. Materiales y equipos

En el procedimiento de extracción mediante QuEChERS se emplearon los siguientes materiales: un tamiz con una malla porosa de 0.15 mm, matraces aforados de 50 mL, vasos de precipitación, micropipetas, viales, estufa, balanza, ultrasonido, balanza, centrífuga y tubos de QuEChERS.

El cromatógrafo empleado en el análisis fue un sistema Thermo Scientific TSQ Quantum GC Triple Quad GC/ECD con inyector automático TriPlus acoplado. Se empleó helio como gas de arrastre y nitrógeno como gas de reposición.

3.2. Toma de muestra

Las muestras fueron provistas por La Asociación de Productores de cacao orgánico del cantón Muisne (APROCA) donde para prevalecer la calidad del producto final se lleva a cabo una fumigación con pesticidas.

3.3. Procedimiento de extracción

3.3.1. Tratamiento de muestra

La muestra fue llevada a la estufa para secarla dicho proceso llevó a cabo durante 12 horas a una temperatura de 140°C, luego se trituró y tamizó para así obtener una muestra de tamaño homogéneo.

Se añadieron 10 gramos de muestra homogeneizada en un tubo Falcon de 50 mL. Seguido, se adicionaron 10 mL de agua Tipo I, se agitó durante 1 minuto para luego dejarlo reposar durante 10 minutos.

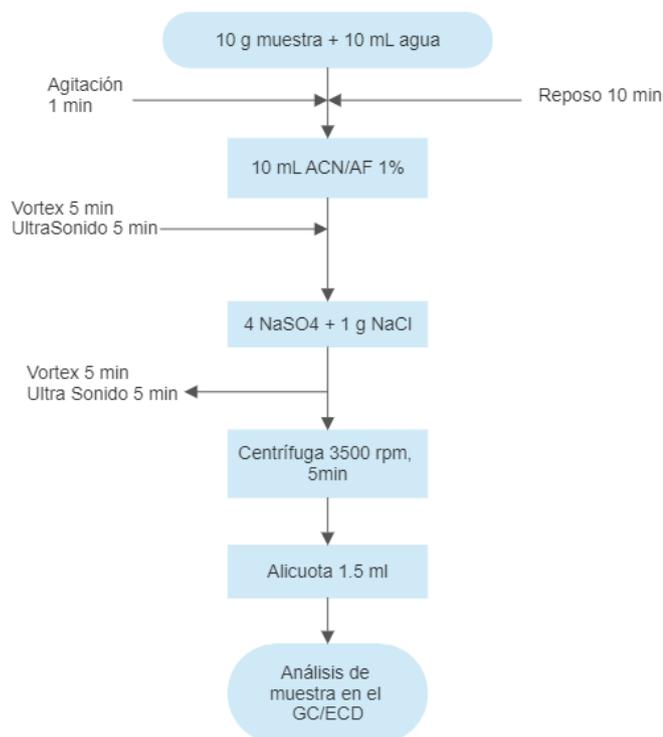
Una vez transcurrido este tiempo se añadieron 10 mL de una solución de acetonitrilo acidificado al 1% con ácido fórmico, se llevó a vortex durante 5 minutos y posterior a ultrasonido durante otros 5 minutos.

Luego, se procede a la adición de 4 g de NaSO_4 anhidro y 1 g NaCl , para de igual manera llevarlos a una agitación en vortex por 5 minutos y seguido a un ultrasonido por otros 5 minutos.

Una vez terminado este proceso los tubos Falcon son llevados a centrífuga durante 5 minutos a una velocidad de 3500 rpm a una temperatura de 10°C, ya transcurrido el tiempo de centrifugación se procede a la extracción de 1.5 mL de sobrenadante para proseguir con la siguiente etapa.

El procedimiento de extracción se basó en el método de extracción en fase dispersiva (d-SPE) QuEChERS.

Figura 2. Diagrama de flujo del proceso de extracción de QuEChERS modificado [Fuente: Gianella Bonifas, 2022]



3.4. Condiciones de operación del cromatógrafo de gases

Tabla 4. Condiciones de operación del equipo [Fuente: Gianella Bonifas, 2022]

| | |
|---------------------------------|------------------------------|
| Columna | VF-1ms 30m x 0.25mm x 0.25um |
| Gas de arrastre | Helio |
| Flujo de gas | 1.0 mL/min |
| Gas de reposición | Nitrógeno |
| Flujo de gas | 1.0 mL/min |
| Temperatura del inyector | 275 °C |
| Temperatura del detector | 290 °C |
| Temperatura inicial | 150° C, por 2 min |
| Rampa | 150 ° C a 270 °C a 5 °C/min |
| Temperatura final | 270° C, por 10 min |

3.5. Esquema de Validación

En función a lo indicación en la siguiente tabla se establecen los factores que intervienen en la validación, y en la tabla, las características de desempeño.

Tabla 5. Detalle del esquema de validación [Fuente: Gianella Bonifas, 2022]

| | |
|------------------|--|
| Muestra | Suelo agrícola |
| Reactivos | Acetonitrilo Ácido fórmico NaSO ₄ NaCl |
| Controles | Blancos Fortificados (0.05 – 0.1 – 0.25) mg/kg |

Tabla 6. Parámetros de estudio dentro de la validación [Fuente: Gianella Bonifas, 2022]

| Parámetro | Actividad |
|---------------------------------|---|
| Blanco muestra | 10 réplicas |
| Límite de detección | Cálculo LD teórico, 10 réplicas del blanco |
| Límite de cuantificación | Determinar el porcentaje de recuperación |
| Intervalo de trabajo | (0.05 – 0.25) mg/kg |
| Selectividad | Screening entre cromatograma estándar/solvente vs estándar/matriz |
| Linealidad | $R^2 \geq 0.98$ |
| Precisión y exactitud | RSD y recuperación |

3.5.1. Herramientas estadísticas

Para la estimación de los parámetros se evaluó el promedio de las réplicas obtenidas, y para dicho propósito se emplearon las siguientes herramientas estadísticas.

3.5.1.1. Media aritmética

Es la suma de todos los valores de muestra dividida entre el número de datos sumados.

$$\bar{X} = \frac{\sum_{i=1}^n x_i}{n}$$

x_i = Valor de una lectura

n = Número total de datos

3.5.1.2. Desviación estándar

Se refiere a la evaluación de cómo los valores se extienden en relación con la media. Existe una relación directamente proporcional, lo que implica que cuando la desviación es mayor, la amplitud en la distribución de los datos también se incrementa.

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

x_i = Valor de una lectura

\bar{X} = Media/promedio de datos

n = Número total de datos

3.5.1.3. Coeficiente de variación

Es el cociente entre la desviación estándar y la media. También se identifica como la desviación estándar relativa (RSD). El coeficiente de variación puede ser representado en forma de porcentaje

$$\%CV = \frac{100\sigma}{\bar{X}}$$

σ = Desviación estándar

\bar{X} = Media/promedio de datos

3.5.1.4. Varianza

La varianza es una métrica de esparcimiento que indica la diversidad de un conjunto de datos con respecto a su promedio. Se calcula como el resultado de elevar al cuadrado la desviación estándar.

3.5.1.5. Porcentaje de recuperación

Se trata de la proporción entre la cantidad del elemento analizado que se ha medido y la cantidad presente en la muestra.

$$\%Recuperación = \frac{Concentración_C}{Concentración_T} * 100$$

3.5.1.6. ANOVA

Es un método estadístico paramétrico utilizado para contrastar hipótesis. Su propósito es identificar si existen diferencias significativas en los resultados entre distintos tratamientos, o si, por el contrario, no hay disparidades significativas. Para lograrlo, se emplearon las fórmulas que se detallan a continuación.

CAPÍTULO 4

4. Criterios de aceptación de una validación

Para la aceptación de los resultados obtenidos se tomó como referencia lo realizado por (UZCATEGUI, 2011) [1].de acuerdo con lo detallado en la siguiente tabla:

Tabla 7. Criterios de aceptación del método

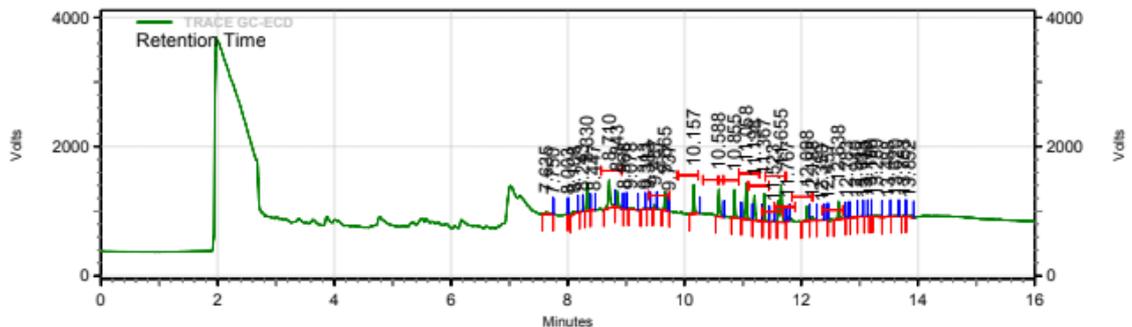
| | |
|----------------------------|----------|
| Recuperación POCs % | 70 - 130 |
| RSD POCs % | 70 - 99 |

4.1. Datos obtenidos de la validación

Se llevaron a cabo los procedimientos de validación de forma secuencial siguiendo las pautas establecidas en la tabla, y se obtuvieron los resultados que se detallan a continuación:

4.1.1. Selectividad

Figura 3. Cromatograma de muestra fortificada [Fuente: Gianella Bonifas, 2023]



La evaluación de la selectividad del método representó un componente esencial de esta investigación, especialmente en un contexto en el que la matriz es conocida por su complejidad y la potencial presencia de múltiples interferencias. Para llevar a cabo esta evaluación, se implementó un enfoque que involucró la comparación de los cromatogramas generados a partir de las inyecciones en el cromatógrafo de gases con detector de captura de electrones (GC-ECD). Este proceso incluyó tanto las muestras en blanco, es decir muestras de suelo sin la presencia de los pesticidas de interés, como las muestras fortificadas con los analitos de estudio.

Los resultados de este análisis se encuentran reflejados en los gráficos correspondientes, los cuales arrojaron hallazgos altamente significativos. Se pudo confirmar de manera concluyente la alta selectividad del método utilizado. Este resultado se fundamenta en la ausencia de cualquier interferencia apreciable entre los tiempos de retención de los pesticidas detectados en las muestras en blanco y aquellos presentes en las muestras fortificadas. Este hallazgo constituye un indicativo sólido de que el método analítico es capaz de discriminar con precisión y de manera efectiva los pesticidas de interés en presencia de la compleja matriz de suelo.

Un elemento adicional que corrobora la optimización del método es la observación de que en las muestras de la matriz en blanco no se detectó la presencia de trazas de pesticidas por debajo del límite de detección del método. Este hecho es sumamente importante, ya que sugiere que la matriz en sí misma no contiene trazas de pesticidas que podrían interferir con la detección de los compuestos de interés. En consecuencia, estas muestras en blanco libre de pesticidas fueron seleccionadas y empleadas de manera efectiva en los ensayos de fortificación, lo que refuerza aún más la confiabilidad y utilidad del método en el contexto de esta investigación.

4.1.2. Linealidad

Figura 5. ANOVA Curva en matriz vs Curva en solvente [Fuente: Gianella Bonifas, 2023]

| SUMMARY | | | | | |
|---------|-------|------------|-------------|-------------|--|
| Groups | Count | Sum | Average | Variance | |
| 0.05 | 6 | 1340245075 | 223374179.2 | 2.09458E+16 | |
| 0.1 | 6 | 1898995186 | 316499197.7 | 3.61636E+16 | |
| 0.2 | 6 | 3307959171 | 551326528.5 | 9.47781E+16 | |
| 0.25 | 6 | 3860016860 | 643336143.3 | 1.26934E+17 | |

| ANOVA | | | | | | |
|---------------------|-------------|----|-------------|-------------|-----------|-----------|
| Source of Variation | SS | df | MS | F | P-value | F crit |
| Between Groups | 6.94538E+17 | 3 | 2.31513E+17 | 3.321298761 | 0.0406307 | 3.0983912 |
| Within Groups | 1.39411E+18 | 20 | 6.97054E+16 | | | |
| Total | 2.08865E+18 | 23 | | | | |

Figura 6. ANOVA pendientes de las curvas de calibración en matriz y solvente [Fuente: Gianella Bonifas, 2023]

Anova: Single Factor

| SUMMARY | | | | | |
|---------|-------|------------|------------|-------------|--|
| Groups | Count | Sum | Average | Variance | |
| Row 1 | 2 | 4949231412 | 2474615706 | 2.69874E+18 | |
| Row 2 | 2 | 3411388728 | 1705694364 | 1.64206E+18 | |
| Row 3 | 2 | 4536394970 | 2268197485 | 1.21367E+18 | |

| ANOVA | | | | | | |
|---------------------|-------------|----|-------------|-------------|---------|--------|
| Source of Variation | SS | df | MS | F | P-value | F crit |
| Between Groups | 6.33506E+17 | 2 | 3.16753E+17 | 0.171079617 | 0.8504 | 9.5521 |
| Within Groups | 5.55448E+18 | 3 | 1.85149E+18 | | | |
| Total | 6.18799E+18 | 5 | | | | |

Es fundamental abordar con profundidad la linealidad del método analítico empleado para la detección de pesticidas en suelos, una matriz conocida por su complejidad y alta propensión a generar interferencias. En este sentido, se considera oportuno destacar que, debido a las características particulares de la matriz suelo y la naturaleza de los analitos de interés, que son pesticidas, se tomó la decisión de priorizar la optimización del método en lugar de la estricta linealidad.

Un aspecto importante por destacar es el resultado del análisis de varianza (ANOVA) realizado entre la curva de calibración desarrollada en matriz suelo y la curva de calibración en solvente. El valor del estadístico F calculado se encontró ligeramente por

encima del valor crítico F , lo que podría llevar a la conclusión de que, desde una perspectiva puramente estadística, existe una diferencia en la linealidad entre ambas curvas. Sin embargo, es necesario profundizar en el análisis para comprender mejor la relevancia práctica de este hallazgo.

Una evaluación más detallada se llevó a cabo al analizar la diferencia de varianza entre las pendientes de ambas curvas de calibración. En este caso, el valor del estadístico F calculado resultó ser menor que el valor crítico F . Este resultado sugiere que, aunque se pueda identificar una diferencia estadística en la linealidad, esta diferencia no es de relevancia práctica o, en otras palabras, no afecta significativamente la capacidad del método para cuantificar pesticidas en presencia de la matriz suelo.

Es importante subrayar que la decisión de priorizar la optimización del método para el aprovechamiento de recursos sobre la linealidad se basó en la necesidad de obtener resultados confiables y precisos en un contexto donde las interferencias son comunes debido a la complejidad de la matriz suelo. Por lo tanto, aunque se haya observado una diferencia estadística en la linealidad, esta no debe ser interpretada como una limitación significativa del método, ya que la principal meta de la tesis, que es la detección precisa de pesticidas en suelos, se ha logrado con éxito. En consecuencia, los resultados respaldan la idoneidad del método analítico empleado para el propósito de esta investigación.

4.1.3. Análisis de blancos

Tabla 8. Cálculo del Límite de detección y límite de cuantificación [Fuente: Gianella Bonifas 2023]

| Área | Concentración |
|----------------------|---------------|
| 36366208 | 0.036058391 |
| 27756896 | 0.026579601 |
| 26290240 | 0.024964824 |
| 33510544 | 0.032914326 |
| 13696928 | 0.011099679 |
| 26684144 | 0.025398509 |
| 30256608 | 0.029331766 |
| 21053056 | 0.019198722 |
| 25393952 | 0.023978017 |
| 32336368 | 0.031621567 |
| Media | 0.02611454 |
| Desv Estándar | 0.007193248 |
| LOD | 0.023737717 |
| LOQ | 0.071932476 |
| RSD | 27.54499022 |

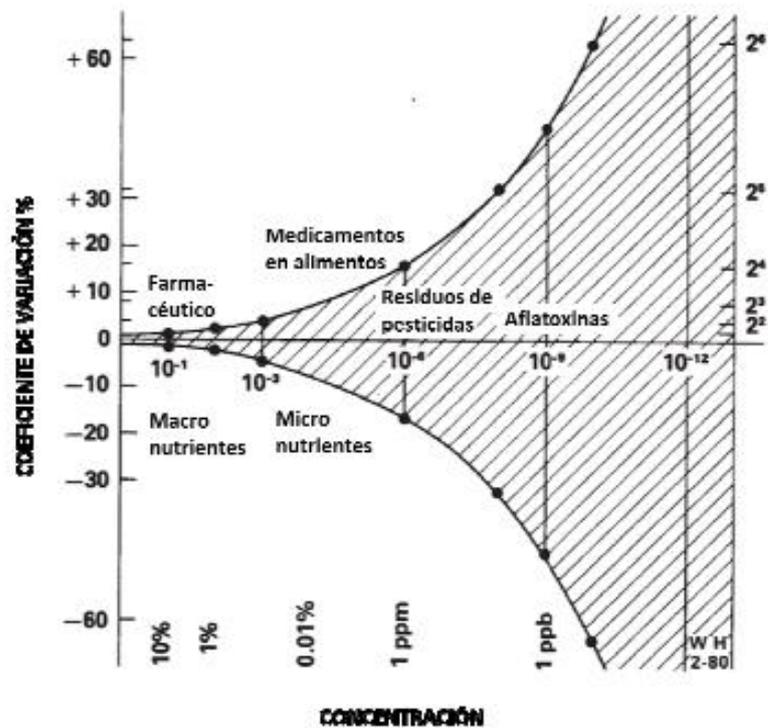
Se procedieron a analizar 10 muestras de blanco matriz obteniéndose resultados de área y concentración a partir de estos datos se procedió al cálculo del límite de detección se determinó a partir de la desviación estándar entre los blancos

4.1.4. Precisión y Exactitud

Tabla 9. Datos de coeficiente de variación y recuperación para muestras fortificadas. [Fuente: Gianella Bonifas, 2023]

| RSD | Recuperación |
|--------|--------------|
| 20.293 | 82.0759197 |
| 0.5522 | 89.90897816 |
| 4.7792 | 95.11640747 |

Figura 7. Trompeta de Horwitz [Fuente: Comisión del Codex Alimentarius, 2009]



Es fundamental analizar y contextualizar los datos obtenidos para evaluar la calidad y la idoneidad del método empleado en nuestro estudio de pesticidas organoclorados totales, en comparación con el método de referencia, EPA METHOD 8081 B, que analiza cada pesticida individualmente. Uno de los aspectos clave que hemos evaluado es la recuperación y la precisión del método, considerando múltiples niveles de fortificación (0.05, 0.2 y 0.25 mg/kg).

Los resultados de recuperación, que oscilan entre el 82% y el 96%, demuestran una eficiencia satisfactoria en la extracción y cuantificación de los pesticidas en nuestra matriz de suelo. Además, la precisión, evaluada mediante el cálculo del RSD (Rango de Desviación Estándar), varía desde 0.56% hasta 21%. Estos valores indican que, en general, el método es capaz de proporcionar resultados coherentes en diferentes niveles de fortificación.

Es importante destacar que, si bien el método base, EPA METHOD 8081 B, muestra variabilidad en los niveles de recuperación y precisión para cada pesticida individual, nuestro

enfoque se centra en estudiar el comportamiento de los pesticidas organoclorados totales. Esta diferencia en el enfoque puede explicar algunas de las variaciones observadas en los resultados en comparación con los estudios anteriores.

En lo que respecta a los valores de RSD, generalmente se espera que sean menores o iguales al 20%. No obstante, en nuestro estudio, hemos considerado que, debido al nivel más bajo de fortificación (0.05 mg/kg) y siguiendo el principio de la campana de Horwitz para concentraciones cercanas a nuestros valores de estudio, sería razonable aceptar un RSD de aproximadamente el 25% como un indicador de precisión aceptable.

Además, es esencial tener en cuenta que la mayoría de los estudios anteriores relacionados con estos mismos analitos de interés se han realizado utilizando detectores de masas. Al consultar diversas fuentes bibliográficas que abordaron el análisis de los mismos analitos en la misma matriz con un detector ECD, observamos que los valores de recuperación oscilan entre el 70% y el 130%. En comparación con estos estudios, nuestros resultados muestran una recuperación significativamente más alta, lo que indica una mejora sustancial en la capacidad de cuantificación de los pesticidas organoclorados totales mediante el método propuesto con detector ECD.

CAPÍTULO 5

5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Los esfuerzos dedicados al desarrollo de esta investigación reflejan los resultados y las implicaciones clave del estudio en relación con la determinación de pesticidas organoclorados totales en suelos agrícolas a través del método de extracción mejorado QuEChERS y el uso del sistema de cromatografía de gases acoplado a detector de captura de electrones (GC-ECD).

En primer lugar, el método QuEChERS mejorado ha demostrado ser altamente eficaz en la detección de los pesticidas de interés en muestras de suelo agrícola. La aplicación de este método proporcionó resultados consistentes y confiables, con recuperaciones que oscilan entre el 82% y el 96% y RSD que varían entre el 5% y el 21%. Además, la construcción de la curva de calibración tanto en matriz como en solvente arrojó resultados satisfactorios, con valores de R^2 superiores a 0.98, lo que indica una excelente linealidad en el método.

Un hallazgo significativo de este estudio es que, al comparar los cromatogramas de muestras de matriz sin analitos y muestras fortificadas, se observó que los pesticidas de estudio no ejercen una influencia significativa en la matriz del suelo. Sin embargo, se resalta la importancia de considerar la presencia de materia orgánica en el suelo en futuras investigaciones, ya que esta variable podría tener una mayor influencia en los resultados. La revisión bibliográfica sugiere que, a mayor concentración de materia orgánica en el suelo, se puede experimentar una mayor retención de pesticidas, lo que podría afectar la efectividad de los métodos analíticos.

Otro aspecto destacado de este estudio es la viabilidad y utilidad del detector de captura de electrones (GC-ECD) en el análisis de pesticidas. A pesar de la limitada cantidad de estudios que utilizan este detector para la detección de pesticidas, nuestros resultados indican que es una alternativa viable y efectiva en laboratorios de ensayo. Esto es relevante, ya que la mayoría de los ensayos se realizan utilizando cromatógrafos de gases acoplados a espectrómetros de masas. Nuestro estudio demuestra que el

GC-ECD puede ser una opción válida y económica para el análisis de estos analitos.

En resumen, este estudio ha demostrado la eficacia del método QuEChERS mejorado y el potencial del GC-ECD en la detección de pesticidas en muestras de suelo agrícola. Sin embargo, se destaca la importancia de considerar la presencia de materia orgánica en futuras investigaciones. Además, se resalta la necesidad de explorar más a fondo el uso del GC-ECD como una alternativa viable en el análisis de pesticidas, lo que podría ser beneficioso en términos de costos y recursos en laboratorios de ensayo. Estos resultados ofrecen una base sólida para futuras investigaciones y aplicaciones en el campo de la química analítica ambiental.

6. Referencias

- [1] J. A. Y. & M. L. Uzcátegui, «Residuos de plaguicidas organoclorados y su relación con parámetros físico-químicos en suelos del municipio Pueblo Llano, Estado Mérida.,» *SciELO*, pp. 115 - 120, 2011.
- [2] A. M. A. J. A. M. B. R. Adalid J, *Cualificación y validación.*, Barcelona: Romagraf, 2007.
- [3] E. N. d. A. (ENAC), *¿Conoce la diferencia entre laboratorios acreditados y no acreditados?*, Madrid: ENAC, 2020.
- [4] O. I. p. O. d. A. (ILAC), *Razones por las cuales debería emplearse un Laboratorio Acreditado*, 2010.
- [5] S. d. A. Ecuatoriano, «Servicio de Acreditación Ecuatoriano,» Gobierno de la República del Ecuador, [En línea]. Available: <https://www.acreditacion.gob.ec/como-acreditarse-laboratorios/>. [Último acceso: 10 October 2021].
- [6] I. O. f. Standarization, *General requirements for competence of calibration and testing laboratories*, 2017.
- [7] U. A. d. México, *Técnicas Cromatográficas*, México, 2007.
- [8] FAO, «Portal de Suelos de la FAO,» Food and Agricultural of the United Nations, 20. [En línea]. Available: <https://www.fao.org/soils-portal/about/definiciones/es/>. [Último acceso: 23 Mayo 2022].
- [9] W. R. S. S. Y. García, «Indicadores de la calidad de los suelos: una nueva manera,» *SciELO*, pp. 1-2, 2012.
- [10] FAO, *Environmental and Social Management Guidelines*, Roma: Food and Agricultural Organization of the United Nations, 2015.
- [11] J. H. G. J. Bo Holmberg, «Toxicology,» de *Encyclopaedia of Occupational Safety and Health.*, 1998, pp. 1-3.
- [12] P. M. P. S. Ravindran Jayaraj, «Organochlorine pesticides, their toxic effects on living organisms and their fate in the environment,» de *Interdisciplinary Toxicology*, India, 2017, pp. 90-100.
- [13] S. T. A. R. Q. M.-Q. W. Ahmed Alengebawy, «Heavy Metals and Pesticides Toxicity in Agricultural Soil and Plants: Ecological Risks and Human Health Implications,» *Toxics*, 2021.
- [14] M. Tankiewicz, «Determination of Selected Priority Pesticides in High Water Fruits and Vegetables by Modified QuEChERS and GC-ECD with GC-MS/MS Confirmation,» *MPDI*, 2019.
- [15] D. A. Varela, J. González, M. Á. González-Sálamo y J. Hernández-Borges, «QuEChERS,» de *Liquid Extraction*, India, elsevier, 2020, pp. 400-403.
- [16] Y. Han y Y. Zhang, *Gas Chromatography: Principles*, Beijing: Elsevier, 2017.
- [17] A. Linde, *Cromatografía de gases: Detector de captura electrónica*, Barcelona: Linde, 2019.
- [18] J. E. C. Ayala, *Aportes analíticos al estudio de aguas residuales y potables*, Cali: Universidad Santiago de Cali, 2020.

7. Apéndices y anexos

Anexo 1. Datos de Curva de calibración en Solvente 1

| AREA | CONCENTRATION |
|------------|---------------|
| 398797218 | 0.05 |
| 610511820 | 0.1 |
| 1003948414 | 0.2 |
| 1111139040 | 0.25 |

SUMMARY OUTPUT

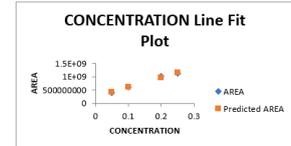
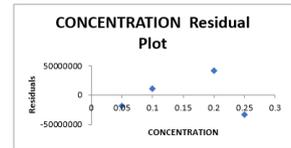
| Regression Statistics | |
|-----------------------|-------------|
| Multiple R | 0.995065138 |
| R Square | 0.990154628 |
| Adjusted R Square | 0.985231942 |
| Standard Error | 40538918.59 |
| Observations | 4 |

| ANOVA | | | | | |
|------------|----|-------------|-------------|------------|----------------|
| | df | SS | MS | F | Significance F |
| Regression | 1 | 3.30556E+17 | 3.30556E+17 | 201.141129 | 0.004934862 |
| Residual | 2 | 3.28681E+15 | 1.6434E+15 | | |
| Total | 3 | 3.33843E+17 | | | |

| | Coefficients | Standard Error | t Stat | P-value | Lower 95% | Upper 95% | Lower 95.0% | Upper 95.0% |
|---------------|--------------|----------------|-------------|-------------|-------------|------------|-------------|-------------|
| Intercept | 235663051.6 | 43473146.99 | 5.420887788 | 0.032385733 | 48613197.05 | 422712906 | 48613197.05 | 422712906.1 |
| CONCENTRATION | 3636240476 | 256390633.3 | 14.18242324 | 0.004934862 | 2533080618 | 4739400334 | 2533080618 | 4739400334 |

RESIDUAL OUTPUT

| Observation | Predicted AREA | Residuals | Standard Residuals |
|-------------|----------------|-------------|--------------------|
| 1 | 417475075.4 | -18677857.4 | -0.564287624 |
| 2 | 599287099.2 | 11224720.8 | 0.339116575 |
| 3 | 962911146.8 | 41037267.2 | 1.239800771 |
| 4 | 1144723171 | -33584130.6 | -1.014629722 |



Anexo 2. Datos de Curva de calibración en Solvente 2

| AREA | CONCENTRATION |
|-----------|---------------|
| 375125297 | 0.05 |
| 435970963 | 0.1 |
| 718098685 | 0.2 |
| 887012047 | 0.25 |

SUMMARY OUTPUT

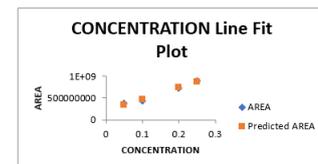
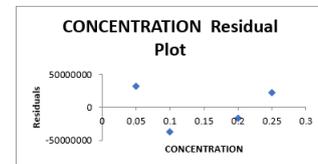
| Regression Statistics | |
|-----------------------|-------------|
| Multiple R | 0.990765299 |
| R Square | 0.981615879 |
| Adjusted R Square | 0.972423818 |
| Standard Error | 39961886.47 |
| Observations | 4 |

| ANOVA | | | | | |
|------------|----|-------------|-------------|--------|----------------|
| | df | SS | MS | F | Significance F |
| Regression | 1 | 1.70538E+17 | 1.70538E+17 | 106.79 | 0.0092347 |
| Residual | 2 | 3.1939E+15 | 1.59695E+15 | | |
| Total | 3 | 1.73732E+17 | | | |

| | Coefficients | Standard Error | t Stat | P-value | Lower 95% | Upper 95% | Lower 95.0% | Upper 95.0% |
|-----------|--------------|----------------|-------------|---------|------------|------------|-------------|-------------|
| Intercept | 212281381.4 | 42854348.97 | 4.953555158 | 0.0384 | 27893999.8 | 396668763 | 27893999.81 | 396668763 |
| CONCENTR | 2611802444 | 252741161.7 | 10.33390219 | 0.0092 | 1524344995 | 3699259893 | 1524344995 | 3699259893 |

RESIDUAL OUTPUT

| Observation | Predicted AREA | Residuals | Standard Residuals |
|-------------|----------------|-------------|--------------------|
| 1 | 342871503.6 | 32253793.4 | 0.98850859 |
| 2 | 473461625.8 | -37490662.8 | -1.149007243 |
| 3 | 734641870.2 | -16543185.2 | -0.507012632 |
| 4 | 865231992.4 | 21780054.6 | 0.667511284 |



Anexo 3. Datos de Curva de calibración en Solvente 3

| AREA | CONCENTRATION |
|-----------|---------------|
| 264185840 | 0.05 |
| 364006433 | 0.1 |
| 703429213 | 0.2 |
| 856273007 | 0.25 |

SUMMARY OUTPUT

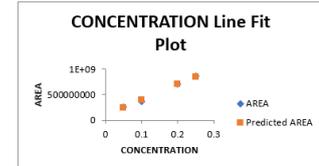
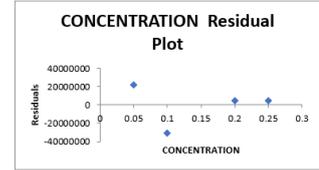
| Regression Statistics | |
|-----------------------|-------------|
| Multiple R | 0.996879492 |
| R Square | 0.993768721 |
| Adjusted R Square | 0.990653082 |
| Standard Error | 26977461.3 |
| Observations | 4 |

| ANOVA | | | | | |
|------------|----|-------------|-------------|---------|----------------|
| | df | SS | MS | F | Significance F |
| Regression | 1 | 2.32135E+17 | 2.32135E+17 | 318.961 | 0.003120508 |
| Residual | 2 | 1.45557E+15 | 7.27783E+14 | | |
| Total | 3 | 2.3359E+17 | | | |

| | Coefficients | Standard Error | t Stat | P-value | Lower 95% | Upper 95% | Lower 95.0% | Upper 95.0% |
|---------------|--------------|----------------|-------------|---------|--------------|------------|--------------|-------------|
| Intercept | 89894489.05 | 28930104.24 | 3.107299176 | 0.08983 | -34581702.91 | 214370681 | -34581702.91 | 214370681 |
| CONCENTRATION | 3047194228 | 170620446.4 | 17.85949042 | 0.00312 | 2313073699 | 3781314757 | 2313073699 | 3781314757 |

RESIDUAL OUTPUT

| Observation | Predicted AREA | Residuals | Standard Residuals |
|-------------|----------------|--------------|--------------------|
| 1 | 242254200.5 | 21931639.55 | 0.995670525 |
| 2 | 394613911.9 | -30607478.85 | -1.389543379 |
| 3 | 699333334.7 | 4095878.35 | 0.185948038 |
| 4 | 851693046.1 | 4579960.95 | 0.207924816 |



Anexo 4. Datos de Curva de calibración en Matriz 1

| AREA | CONCENTRATION |
|-----------|---------------|
| 107108752 | 0.05 |
| 185641585 | 0.1 |
| 315234067 | 0.2 |
| 370560245 | 0.25 |

SUMMARY OUTPUT

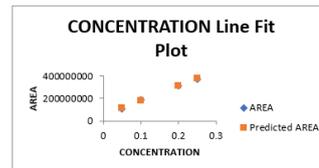
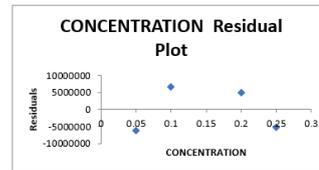
| Regression Statistics | |
|-----------------------|-------------|
| Multiple R | 0.998420665 |
| R Square | 0.996843624 |
| Adjusted R Square | 0.995265736 |
| Standard Error | 8260070.703 |
| Observations | 4 |

| ANOVA | | | | | |
|------------|----|-------------|-------------|--------|----------------|
| | df | SS | MS | F | Significance F |
| Regression | 1 | 4.30986E+16 | 4.30986E+16 | 631.68 | 0.00157934 |
| Residual | 2 | 1.36458E+14 | 6.82288E+13 | | |
| Total | 3 | 4.32351E+16 | | | |

| | Coefficients | Standard Error | t Stat | P-value | Lower 95% | Upper 95% | Lower 95.0% | Upper 95.0% |
|-----------|--------------|----------------|-------------|---------|------------|------------|-------------|-------------|
| Intercept | 47687521.85 | 8857938.994 | 5.383591136 | 0.0328 | 9574886.46 | 85800157.2 | 9574886.46 | 85800157.2 |
| CONCENTR | 1312990936 | 52241274.11 | 25.13321044 | 0.0016 | 1088214875 | 1537766997 | 1088214875 | 1537766997 |

RESIDUAL OUTPUT

| Observation | Predicted AREA | Residuals | Standard Residuals |
|-------------|----------------|-------------|--------------------|
| 1 | 113337068.7 | -6228316.85 | -0.923490748 |
| 2 | 178986615.5 | 6654969.55 | 0.986751823 |
| 3 | 310285709.1 | 4948357.95 | 0.733707524 |
| 4 | 375935255.9 | -5375010.85 | -0.796968599 |



Anexo 5. Datos de Curva de Calibración en Matriz 2

| AREA | CONCENTRATION |
|-----------|---------------|
| 52445024 | 0.05 |
| 95636272 | 0.1 |
| 186138370 | 0.2 |
| 207090546 | 0.25 |

SUMMARY OUTPUT

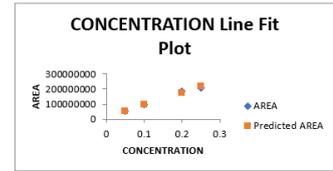
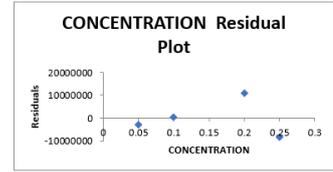
| Regression Statistics | |
|-----------------------|-------------|
| Multiple R | 0.99401289 |
| R Square | 0.988061625 |
| Adjusted R S | 0.982092438 |
| Standard Err | 9826546.961 |
| Observations | 4 |

| ANOVA | | | | | |
|------------|----|-------------|-------------|--------|----------------|
| | df | SS | MS | F | Significance F |
| Regression | 1 | 1.59835E+16 | 1.59835E+16 | 165.53 | 0.00598711 |
| Residual | 2 | 1.93122E+14 | 9.6561E+13 | | |
| Total | 3 | 1.61766E+16 | | | |

| | Coefficients | Standard Error | t Stat | P-value | Lower 95% | Upper 95% | Lower 95.0% | Upper 95.0% |
|-----------|--------------|----------------|-------------|---------|-----------|------------|-------------|-------------|
| Intercept | 15389610.4 | 10537797.63 | 1.460419998 | 0.2816 | -29950873 | 60730094.2 | -29950873.4 | 60730094.2 |
| CONCENTR | 799586284 | 62148539.86 | 12.8657292 | 0.006 | 532182699 | 1066989869 | 532182699.3 | 1066989869 |

RESIDUAL OUTPUT

| Observation | Predicted AREA | Residuals | Standard Residuals |
|-------------|----------------|------------|--------------------|
| 1 | 55368924.6 | -2923900.6 | -0.364424276 |
| 2 | 95348238.8 | 288033.2 | 0.035899405 |
| 3 | 175306867.2 | 10831502.8 | 1.349988891 |
| 4 | 215286181.4 | -8195635.4 | -1.02147402 |



Anexo 6. Datos de curva de calibración en matriz 3

| AREA | CONCENTRATION |
|-----------|---------------|
| 142582944 | 0.05 |
| 207228113 | 0.1 |
| 381110422 | 0.2 |
| 427941975 | 0.25 |

SUMMARY OUTPUT

| Regression Statistics | |
|-----------------------|-------------|
| Multiple R | 0.995799061 |
| R Square | 0.99161577 |
| Adjusted R S | 0.987423655 |
| Standard Err | 15309751.1 |
| Observations | 4 |

| ANOVA | | | | | |
|------------|----|-------------|-------------|--------|----------------|
| | df | SS | MS | F | Significance F |
| Regression | 1 | 5.5443E+16 | 5.5443E+16 | 236.54 | 0.00420094 |
| Residual | 2 | 4.68777E+14 | 2.34388E+14 | | |
| Total | 3 | 5.59117E+16 | | | |

| | Coefficients | Standard Error | t Stat | P-value | Lower 95% | Upper 95% | Lower 95.0% | Upper 95.0% |
|-----------|--------------|----------------|-------------|---------|------------|------------|-------------|-------------|
| Intercept | 66335752.2 | 16417876.99 | 4.040458102 | 0.0561 | -4304679.7 | 136976184 | -4304679.7 | 136976184 |
| CONCENTR | 1489200742 | 96827367.79 | 15.37995689 | 0.0042 | 1072586204 | 1905815280 | 1072586204 | 1905815280 |

RESIDUAL OUTPUT

| Observation | Predicted AREA | Residuals | Standard Residuals |
|-------------|----------------|-------------|--------------------|
| 1 | 140795789.3 | 1787154.7 | 0.142968265 |
| 2 | 215258826.4 | -8027713.4 | -0.642198606 |
| 3 | 364175900.6 | 16934521.4 | 1.354722758 |
| 4 | 438635937.7 | -10693962.7 | -0.855492417 |

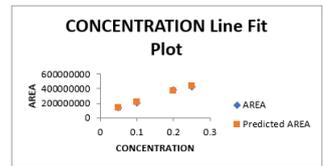
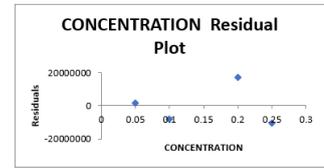


Tabla 10. Datos para análisis de pendientes en curvas de calibración

| | MATRIX | SOLV |
|----|------------|------------|
| 1 | 1312990936 | 3636240476 |
| 2 | 799586284 | 2611802444 |
| 3 | 1489200742 | 3047194228 |
| AV | 1200592654 | 3098412383 |

Tabla 11. Datos para fortificados 1

| AREA | | |
|------|----|----|
| D1 | D2 | D3 |

| | | | |
|------|-----------|-----------|-----------|
| 0.05 | 113559856 | 105032240 | 110353904 |
| 0.2 | 334270706 | 332572786 | 285019521 |
| 0.25 | 405285428 | 417368452 | 438709061 |

Tabla 12. Datos para fortificados 2

| CONCENTRATION | | | | | | | |
|----------------------|-----------|-----------|-----------|----------------|-------------|------------|--------------|
| | D1 | D2 | D3 | AVERAGE | ACC | RSD | RECOV |
| 0.05 | 0.031711 | 0.0437 | 0.047728 | 0.04103796 | 0.008327692 | 20.293 | 82.0759197 |
| 0.2 | 0.1799186 | 0.1788 | 0.180757 | 0.179817956 | 0.000992983 | 0.5522 | 89.90897816 |
| 0.25 | 0.2276051 | 0.2357 | 0.250049 | 0.237791019 | 0.011364583 | 4.7792 | 95.11640747 |