



# **UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE**

**FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y  
AMBIENTALES**

**CARRERA DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL**

## **TÍTULO**

**“ESTANDARIZACIÓN DEL MÉTODO POR  
CROMATOGRFÍA DE GASES PARA DETERMINAR  
PLAGUICIDAS ORGANOCOLORADOS EN EL AGUA  
POTABLE”**

**TESIS PREVIA A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE INGENIERO (A)  
AGROINDUSTRIAL**

**Autor:** PABLO GERMÁN AGUIRRE ARIAS

**Director(a):** Dra. Lucía Del Carmen Toromoreno Arévalo

**IBARRA, NOVIEMBRE, 2015**

# UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE

## FACULTAD DE INGENIERÍA EN CIENCIAS AGROPECUARIAS Y AMBIENTALES

### CARRERA DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL

#### “ESTANDARIZACIÓN DEL MÉTODO POR CROMATOGRAFÍA DE GASES PARA DETERMINAR PLAGUICIDAS ORGANOCOLORADOS EN EL AGUA POTABLE”

Tesis revisada por los miembros del tribunal, por lo cual se autoriza su presentación  
como requisito parcial para obtener el título de:

#### INGENIERO AGROINDUSTRIAL

#### APROBADA:

#### DIRECTOR(A) DE TESIS

Dra. Lucía Toromoreno



FIRMA

#### MIEMBRO DEL TRIBUNAL

Ing. Jorge Castro



FIRMA

#### MIEMBRO DEL TRIBUNAL

Ing. Iván Vaca



FIRMA

#### MIEMBRO DEL TRIBUNAL

Dra. Lucía Yépez



FIRMA



# UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE

## BIBLIOTECA UNIVERSITARIA

### AUTORIZACIÓN DE USO Y PUBLICACIÓN

#### A FAVOR DE LA UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE

#### I. IDENTIFICACIÓN DE LA OBRA

La Universidad Técnica del Norte dentro del proyecto Repositorio Digital Institucional, determinó la necesidad de disponer de textos completos en formato digital con la finalidad de apoyar los procesos de investigación, docencia y extensión de la Universidad.

Por medio del presente documento dejo sentada mi voluntad de participar en este proyecto, para lo cual pongo a disposición la siguiente información:

DATOS DE CONTACTO			
<b>CÉDULA DE IDENTIDAD:</b>	100258516-2		
<b>APELLIDOS Y NOMBRES:</b>	Aguirre Arias Pablo Germán		
<b>DIRECCIÓN:</b>	Ibarra, José Vinueza 1-78		
<b>EMAIL:</b>	<a href="mailto:pblogaguirre@gmail.com">pblogaguirre@gmail.com</a>		
<b>TELÉFONO FIJO:</b>	2641316	<b>TELÉFONO MÓVIL:</b>	0990123297
DATOS DE LA OBRA			
<b>TÍTULO:</b>	“Estandarización del método por cromatografía de gases para determinar plaguicidas organoclorados en el agua potable.”		
<b>AUTOR:</b>	Aguirre Arias Pablo Germán		
<b>FECHA:</b>	2015/11/26		
SOLO PARA TRABAJOS DE GRADO			
<b>PROGRAMA:</b>	<input checked="" type="checkbox"/>	PREGRADO	<input type="checkbox"/> POSTGRADO
<b>TÍTULO POR EL QUE OPTA:</b>	Ingeniero Agroindustrial		
<b>ASESOR / DIRECTOR:</b>	Dra. Lucía Del Carmen Toromoreno Arévalo		

## **II. AUTORIZACIÓN DE USO A FAVOR DE LA UNIVERSIDAD**

Yo, Pablo Germán Aguirre Arias, con cédula de identidad número 100258516-2, en calidad de autor y titular de los derechos patrimoniales de la obra o trabajo de grado descrito anteriormente, hago entrega del ejemplar respectivo en formato digital y autorizo a la Universidad Técnica del Norte, la publicación de la obra en el Repositorio Digital Institucional y uso del archivo digital en la Biblioteca de la Universidad con fines académicos, para ampliar la disponibilidad del material y como apoyo a la educación, investigación y extensión; en concordancia con la Ley de Educación Superior Artículo 144.

### **CONSTANCIAS**

El autor manifiesta que la obra objeto de la presente autorización es original y se la desarrolló, sin violar derechos de autor de terceros, por lo tanto la obra es original y que es el titular de los derechos patrimoniales, por lo que asume la responsabilidad sobre el contenido de la misma y saldrá en defensa de Universidad en caso de reclamación por parte de terceros.

Ibarra, a los 26 días del mes de Noviembre del 2015

**EL AUTOR:**



---


Pablo Germán Aguirre Arias

C.I. 100258516-2

## DECLARACIÓN

Manifiesto que la presente obra es original y se la desarrolló, sin violar derechos de autor de terceros; por lo tanto es original, y que soy el titular de los derechos patrimoniales; por lo que asumo la responsabilidad sobre el contenido de la misma y saldré en defensa de la Universidad Técnica del Norte en caso de reclamación por parte de terceros.

Ibarra, a los 26 días del mes de Noviembre del 2015



---

Pablo Germán Aguirre Arias

C.I. 100258516-2

## CERTIFICACIÓN

Certifico que el presente trabajo fue desarrollado por el Sr. Pablo Germán Aguirre Arias, bajo mi supervisión.



Dra. Lucía Del Carmen Toromoreno Arévalo  
DIRECTOR(A) DE TESIS

**CESIÓN DE DERECHOS DE AUTOR DEL TRABAJO DE GRADO A  
FAVOR DE LA UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE**

Yo, Aguirre Arias Pablo Germán, con cédula de identidad Nro. 100258516-2, manifiesto mi voluntad de ceder a la Universidad Técnica del Norte los derechos patrimoniales consagrados en la Ley de Propiedad Intelectual del Ecuador, artículos 4, 5 y 6, en calidad de autor de la obra o trabajo de grado denominado: **“ESTANDARIZACIÓN DEL MÉTODO POR CROMATOGRAFÍA DE GASES PARA DETERMINAR PLAGUICIDAS ORGANOCOLORADOS EN EL AGUA POTABLE”**, que ha sido desarrollado para optar por el título de: **INGENIERO AGROINDUSTRIAL** en la Universidad Técnica del Norte, quedando la Universidad facultada para ejercer plenamente los derechos cedidos anteriormente. En condición de autor me reservo los derechos morales de la obra antes citada. En concordancia suscribimos este documento en el momento que hacemos entrega del trabajo final en formato impreso y digital a la Biblioteca de la Universidad Técnica del Norte.

Ibarra, a los 26 días del mes de Noviembre del 2015



---

Pablo Germán Aguirre Arias

C.I. 100258516-2

## AGRADECIMIENTO

¶ Agradezco a Dios, que a pesar de no seguir en toda su voluntad y sus mandamientos, ha sabido darme la oportunidad de seguir adelante, en las adversidades y alegrías.

¶ A la Universidad Técnica del Norte por brindarme la oportunidad de desarrollarme académicamente.

¶ A la FICAYA, a la Carrera de Ingeniería Agroindustrial y a sus docentes en especial al Ing. Marco Cahueñas, Ing. Milton Núñez, Ing. Hernán Cadena quienes me supieron transmitir sus conocimientos y experiencias y al Ing. Jorge Castro que con sus palabras de apoyo y su excelente don de gente que me ha motivado a continuar, a todos ellos gracias han hecho parte importante para que pueda culminar con éxito mi etapa estudiantil.

¶ Mi agradecimiento sincero a mi directora de tesis la Dra. Lucía Toromoreno por su paciencia, su acertado asesoramiento durante el proceso de la investigación y por ser un gran ser humano.

¶ A mis asesores de tesis Dra. Lucía Yépez, Ing. Iván Vaca e Ing. Jorge Castro, gracias por su apoyo y sus acertados consejos en la investigación, me han ayudado a acrecentar mis conocimientos.

¶ A la Empresa Municipal de Agua Potable de Ibarra, al laboratorio de control de calidad de Agua de la misma y al personal técnico Ing. Christian Tafur y la Dra. Carla Valarezo con quienes hicimos una bella amistad y también fueron quienes me apoyaron con sus conocimientos para realizar este proyecto.

¶ A la comunidad de Alcohólicos Anónimos en especial al “Grupo Ibarra”, que gracias a la misericordia de Dios me puso en ese lugar cuando lo había perdido todo, lugar en donde me di cuenta que tenía una enfermedad incurable, progresiva y fatal (Alcoholismo), Alcohólicos Anónimos me devolvió la vida y me ayudó a ser un mejor ser humano. Gracias a los compañeros de enfermedad Patricio A.(+), Patricio M. (Apá), Cesar P., Marcelo B(+)., Javier F., Juan D., Mauricio S., Henry P., Diego Ch., Marco L., Andrés C., Ney D., entre otros, con quienes compartimos fortaleza y esperanza.



## DEDICATORIA

📖 Dedico este trabajo de manera muy especial a mi madre Rubí Arias y a mi padre Germán Aguirre por su amor infinito, valores, consejos y apoyo incondicional, pese a tropezar muchas veces siempre creyeron en mí, gracias a ellos he llegado a cumplir esta etapa.

📖 Dedico también esta investigación a mis hermanos Wilian, Nancy y Washo, porque siempre me brindaron su apoyo en todo momento.

📖 En especial a Mayra Navas mi compañera, mi amiga y mi amor que con su apoyo y mejores deseos en las tristezas y alegrías me motivó para continuar sobre todo cuando las fuerzas se agotaban.

📖 A mis buenos amigos Juan Domínguez, Diego Chiriboga, Byron Quispe, William Vallejo, María Belén Rosas, William Chuma, entre otros, con quienes compartimos momentos especiales y me apoyaron siempre desinteresadamente, y que confiaron en mí, gracias los guardo en mi corazón.

## ÍNDICE DE CONTENIDOS

ÍNDICE DE TABLAS	vii
ÍNDICE DE FIGURAS	xi
ÍNDICE DE GRÁFICOS	xiv
ÍNDICE DE ANEXOS	xv
RESUMEN.....	1
SUMMARY.....	3
<b>CAPÍTULO 1 INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>5</b>
1.1 ANTECEDENTES.....	5
1.2 PROBLEMA.....	7
1.3 JUSTIFICACIÓN.....	8
1.4 OBJETIVOS.....	10
1.4.1 <i>Objetivo General</i> .....	10
1.4.2 <i>Objetivos Específicos</i> .....	10
1.5 HIPÓTESIS.....	11
1.5.1 <i>Hipótesis nula</i> .....	11
1.5.2 <i>Hipótesis alternativa</i> .....	11
1.6 VARIABLES.....	11
1.6.1 <i>Variable dependiente</i> .....	11
1.6.2 <i>Variable independiente</i> .....	11
<b>CAPÍTULO 2 MARCO TEÓRICO.....</b>	<b>12</b>
2.1 EL AGUA.....	12
2.2 TIPOS DE AGUA.....	12
2.2.1 <i>Agua Cruda</i> .....	12
2.2.2 <i>Agua Potable</i> .....	12
2.2.3 <i>Agua Residual</i> .....	13
2.3 CALIDAD DEL AGUA.....	14
2.4 PLAGUICIDA.....	14
2.5 USO DE PLAGUICIDAS.....	15

2.6	CONTAMINACIÓN DE LOS PLAGUICIDAS EN EL MEDIO AMBIENTE. ....	16
2.7	REPERCUSIÓN DE LOS PLAGUICIDAS EN LA SALUD HUMANA Y EN LOS ALIMENTOS... ..	18
2.8	CLASIFICACIÓN DE LOS PLAGUICIDAS. ....	19
2.9	PRINCIPALES GRUPOS DE PLAGUICIDAS .....	19
2.9.1	<i>Plaguicidas carbamatos.</i> .....	19
2.9.1.1	Propiedades.....	19
2.9.1.2	Tóxico cinética. ....	19
2.9.1.3	Sintomatología.....	20
2.9.2	<i>Plaguicidas organofosforados.</i> .....	20
2.9.2.1	Propiedades.....	20
2.9.2.2	Tóxico cinética. ....	20
2.9.2.3	Sintomatología.....	21
2.9.3	<i>Plaguicidas organoclorados.</i> .....	22
2.9.3.1	Características y propiedades de los plaguicidas organoclorados. ....	22
2.9.3.1.1	Derivados de hidrocarburos aromáticos: .....	23
2.9.3.1.2	Derivados de hidrocarburos alicíclicos: .....	23
2.9.3.1.3	Derivados de hidrocarburos ciclodiénicos:.....	23
2.9.3.1.4	Derivados de hidrocarburos terpénicos: .....	23
2.9.3.2	(DDT). ....	24
2.9.3.3	Toxicocinética y toxicodinámica de compuestos organoclorados. ....	25
2.9.3.3.1	Vías de absorción.....	25
2.9.3.3.2	Mecanismos de acción sobre el organismo. ....	25
2.9.3.3.3	Biotransformación y excreción.....	25
2.9.3.3.4	Pruebas de laboratorio. ....	26
2.9.3.4	DDT y su impacto en el ambiente. ....	27
2.10	PLAGUICIDAS PROHIBIDOS EN EL ECUADOR. ....	27
2.11	EMPRESA MUNICIPAL DE AGUA POTABLE Y ALCANTARILLADO DE IBARRA.....	29
2.12	IMPLEMENTACIÓN DE MÉTODOS DE CONTROL DE CALIDAD EN EL AGUA. ....	29
2.12.1	<i>Método de análisis.</i> .....	30
2.12.1.1	Método normalizado.....	30
2.13	TÉCNICAS ANALÍTICAS. ....	30
2.14	ANÁLISIS DE PLAGUICIDAS. ....	30
2.15	MÉTODOS DE EXTRACCIÓN.....	31

2.15.1	<i>Extracción asistida por ultrasonido.</i>	31
2.15.2	<i>Extracción soxhlet.</i>	31
2.15.3	<i>Extracción en fase sólida (SPE) o cleanup.</i>	32
2.15.3.1	Adsorbentes.	32
2.15.3.2	Tipos de (SPE).	32
2.15.3.3	Cartuchos para la extracción en fase solida (SPE).	33
2.15.3.4	Acondicionamiento.	34
2.15.3.5	Retención.	34
2.15.3.6	Lavado y secado.	35
2.15.3.7	Elución.	36
2.15.4	<i>Extracción líquido-líquido (ELL).</i>	36
2.15.4.1	Características del disolvente de extracción.	37
2.15.4.2	Disolventes inmiscibles con el agua, disolventes utilizados con mayor frecuencia.	38
2.15.4.3	Repetición en el proceso de extracción.	39
2.16	CROMATOGRAFÍA.	39
2.16.1	<i>Tipos de cromatografía.</i>	39
2.16.2	<i>Cromatografía de gases.</i>	40
2.16.2.1	Fundamentos y principios básicos.	40
2.16.2.2	Instrumentación de un cromatógrafo de gases.	42
2.16.2.2.1	Gas portador.	42
2.16.2.2.2	Inyección en columnas capilares.	43
2.16.2.2.3	Columnas.	44
2.16.2.2.4	Sistemas de control de temperaturas (Horno).	45
2.16.2.2.5	Detectores.	46
2.16.2.2.6	Fases estacionarias.	47
2.17	ANÁLISIS QUÍMICOS.	47
2.17.1	<i>Análisis cualitativo.</i>	48
2.17.2	<i>Análisis cuantitativo.</i>	48
2.17.3	<i>Aseguramiento de la calidad.</i>	48
2.17.3.1	Estandarización.	48
2.17.3.2	Validación.	49
2.17.4	<i>Parámetros de Calidad.</i>	49

2.17.4.1	Exactitud.....	49
2.17.4.1.1	Veracidad.....	49
2.17.4.1.2	Precisión. ....	49
2.17.4.2	Selectividad o especificidad. ....	50
2.17.4.3	Límite de detección y límite de cuantificación.....	51
2.17.4.4	Linealidad. ....	52
2.17.4.5	Sensibilidad. ....	52
2.17.4.6	Robustez. ....	53
2.17.4.7	Sesgo (s). ....	53
2.17.4.8	Recuperación (R).....	54
2.17.4.9	Incertidumbre.....	56
<b>CAPÍTULO 3 METODOLOGÍA .....</b>		<b>59</b>
3.1	MATERIALES, EQUIPOS, REACTIVOS Y ESTÁNDARES.....	59
3.1.1	<i>Equipos.</i> .....	59
3.1.2	<i>Materiales.</i> .....	59
3.1.3	<i>Reactivos.</i> .....	59
3.1.4	<i>Estándares.</i> .....	60
3.2	PROCEDIMIENTO. ....	60
3.2.1	<i>Selección de las condiciones de trabajo.</i> .....	61
3.2.1.1	Consideraciones antes de calibrar el equipo.....	62
3.2.1.1.1	Gases.....	62
3.2.1.1.2	Rampas de temperatura. ....	62
3.2.1.1.3	Puntos de ebullición solventes volátiles .....	63
3.2.1.1.4	EPA 508.....	63
3.2.1.2	Pruebas de ajustes en línea base. ....	64
3.2.1.2.1	Prueba 1.....	64
3.2.1.2.2	Prueba 2.....	65
3.2.1.2.3	Prueba 3.....	66
3.2.1.2.4	Prueba 4.....	67
3.2.1.3	Condiciones finales óptimas para el análisis de plaguicidas organoclorados. ...	68
3.2.2	<i>Preparación de los estándares.</i> .....	69
3.2.3	<i>Identificación de plaguicidas.</i> .....	71

3.2.4	<i>Curvas de calibración.</i>	71
3.2.5	<i>Cuantificación.</i>	72
3.2.6	<i>Determinación y cálculo de parámetros estadísticos.</i>	72
3.2.7	<i>Diagrama de flujo determinación de plaguicidas organoclorados.</i>	74
<b>CAPÍTULO 4 RESULTADOS Y DISCUSIONES</b>		<b>75</b>
4.1	ANÁLISIS CROMATOGRÁFICO DE LOS ESTÁNDARES.	75
4.2	CURVA DE CALIBRACIÓN CON LOS ESTÁNDARES DE PLAGUICIDAS.	76
4.2.1	<i>Mejores curvas de calibración de los estándares puros.</i>	78
4.3	LÍMITES.	83
4.3.1	<i>Límites de detección (LD).</i>	84
4.3.2	<i>Límites de cuantificación (LC).</i>	85
4.4	LINEALIDAD Y SENSIBILIDAD	87
4.4.1	<i>Linealidad.</i>	87
4.4.2	<i>Sensibilidad.</i>	87
4.5	PRECISIÓN	96
4.5.1	<i>Repetibilidad.</i>	96
4.5.2	<i>Reproducibilidad.</i>	103
4.6	EXACTITUD	110
4.6.1	<i>Preparación del material de referencia certificado (CRM) por extracción en fase sólida (SPE).</i>	111
4.6.2	<i>Cálculos para 4.4'-DDT.</i>	112
4.6.3	<i>Cálculos para 4.4'-DDD</i>	114
4.6.4	<i>Cálculos para 4.4'-DDe</i>	116
4.7	FUNCIÓN RESPUESTA	119
4.8	INCERTIDUMBRE	135
4.9	ANÁLISIS DE VARIANZA	137
<b>CAPÍTULO 5 CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES</b>		<b>143</b>
5.1	CONCLUSIONES	143
5.2	RECOMENDACIONES	145
<b>CAPÍTULO 6 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>		<b>146</b>
GLOSARIO		152

ABREVIATURAS ..... 154

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Condiciones para análisis de plaguicidas organoclorados. ....	68
Tabla 2. Tiempos de retención de los estándares. ....	76
Tabla 3. Áreas y repeticiones del 4.4'-DDT.....	77
Tabla 4. Áreas y repeticiones del 4.4'-DDD. ....	77
Tabla 5. Áreas y repeticiones del 4.4'-DDE.....	78
Tabla 6. Datos promedio de áreas y concentración 4.4'-DDT. ....	79
Tabla 7. Datos promedio de áreas y concentración 4.4'-DDD.....	79
Tabla 8. Datos promedio de áreas y concentración 4.4'-DDE. ....	80
Tabla 9. Límite de Detección (LD) del 4.4'-DDT.....	84
Tabla 10. Límite de Detección (LD) del 4.4'-DDD. ....	84
Tabla 11. Límite de Detección (LD) del 4.4'-DDE.....	85
Tabla 12. Límite de Cuantificación (LC) del 4.4'-DDT. ....	85
Tabla 13. Límite de Cuantificación (LC) del 4.4'-DDD. ....	86
Tabla 14. Límite de Cuantificación (LC) del 4.4'-DDE. ....	86
Tabla 15. Linealidad Datos Día 1 del 4.4'-DDT. ....	88
Tabla 16. Linealidad Datos Día 2 del 4.4'-DDT. ....	88
Tabla 17. Linealidad Datos Día 3 del 4.4'-DDT. ....	88
Tabla 18. Linealidad pendientes, intercepto y el coeficiente de determinación 4.4'-DDT. ....	88
Tabla 19. Linealidad resumen de la mejor curva (Día 1) 4.4'-DDT. ....	89
Tabla 20. Linealidad Datos Día 1 del 4.4'-DDD.....	90
Tabla 21. Linealidad Datos Día 2 del 4.4'-DDD.....	90
Tabla 22. Linealidad Datos Día 3 del 4.4'-DDD.....	90
Tabla 23. Linealidad pendientes, intercepto y el coeficiente de determinación 4.4'-DDD. ....	91
Tabla 24. Linealidad resumen de la mejor curva (Día 3) 4.4'-DDD.....	92
Tabla 25. Linealidad Datos Día 1 del 4.4'-DDE. ....	93
Tabla 26. Linealidad Datos Día 2 del 4.4'-DDE. ....	93
Tabla 27. Linealidad Datos Día 3 del 4.4'-DDE. ....	93
Tabla 28. Linealidad pendientes, intercepto y el coeficiente de determinación 4.4'-DDE. ....	94
Tabla 29. Linealidad resumen de la mejor curva (Día 1) 4.4'-DDE. ....	95
Tabla 30. %CVr de concentración 0,50 ug/l del 4.4'-DDT.....	97
Tabla 31. %CVr de concentración 1,00 ug/l del 4.4'-DDT.....	97



Tabla 32. %CVr de concentración 1,50 ug/l del 4.4'-DDT.....	97
Tabla 33. %CVr de concentración 2,00 ug/l del 4.4'-DDT.....	98
Tabla 34. Repetibilidad Datos de prueba de Fisher al 95% de confianza del 4.4'-DDT. ...	98
Tabla 35. %CVr de concentración 0,50 ug/l del 4.4'-DDD. ....	99
Tabla 36. %CVr de concentración 1,00 ug/l del 4.4'-DDD. ....	99
Tabla 37. %CVr de concentración 1,50 ug/l del 4.4'-DDD. ....	99
Tabla 38. %CVr de concentración 2,00 ug/l del 4.4'-DDD. ....	100
Tabla 39. Repetibilidad Datos de prueba de Fisher al 95% de confianza del 4.4'-DDD. .	100
Tabla 40. %CVr de concentración 0,50 ug/l del 4.4'-DDE.....	101
Tabla 41. %CVr de concentración 1,00 ug/l del 4.4'-DDE.....	101
Tabla 42. %CVr de concentración 1,50 ug/L del 4.4'-DDE. ....	101
Tabla 43. %CVr de concentración 2,00 ug/L del 4.4'-DDE. ....	102
Tabla 44. Repetibilidad Datos de prueba de Fisher al 95% de confianza del 4.4'-DDE. .	102
Tabla 45. %CVRi de concentración 0,50 ug/l del 4.4'-DDT. ....	103
Tabla 46. %CVRi de concentración 1,00 ug/l del 4.4'-DDT. ....	104
Tabla 47. %CVRi de concentración 1,50 ug/l del 4.4'-DDT. ....	104
Tabla 48. %CVRi de concentración 2,00 ug/l del 4.4'-DDT. ....	104
Tabla 49. Reproducibilidad Datos de prueba de Fisher al 95% de confianza del 4.4'-DDT. .....	105
Tabla 50. %CVRi de concentración 0,50 ug/l del 4.4'-DDD.....	106
Tabla 51. %CVRi de concentración 1,00 ug/l del 4.4'-DDD.....	106
Tabla 52. %CVRi de concentración 1,50 ug/l del 4.4'-DDD.....	106
Tabla 53. %CVRi de concentración 2,00 ug/l del 4.4'-DDD.....	107
Tabla 54. Reproducibilidad Datos de prueba de Fisher al 95% de confianza del 4.4'-DDD. .....	107
Tabla 55. %CVRi de concentración 0,50 ug/l del 4.4'-DDE. ....	108
Tabla 56. %CVRi de concentración 1,00 ug/l del 4.4'-DDE. ....	108
Tabla 57. %CVRi de concentración 1,50 ug/l del 4.4'-DDE. ....	108
Tabla 58. %CVRi de concentración 2,00 ug/l del 4.4'-DDE. ....	109
Tabla 59. Reproducibilidad Datos de prueba de Fisher al 95% de confianza del 4.4'-DDE. .....	109
Tabla 60. CRM Datos del 4.4'-DDT. ....	113
Tabla 61. Cálculo del Sesgo del 4.4'-DDT. ....	113

Tabla 62. Porcentaje de recuperación (%R) del 4.4'-DDT. ....	114
Tabla 63. CRM Datos del 4.4'-DDD.....	115
Tabla 64. Cálculo del Sesgo del 4.4'-DDD.....	115
Tabla 65. Porcentaje de recuperación (%R) del 4.4'-DDD.....	116
Tabla 66. CRM Datos del 4.4'-DDE.....	117
Tabla 67. Cálculo del Sesgo del 4.4'-DDE. ....	117
Tabla 68. Porcentaje de recuperación (%R) del 4.4'-DDE. ....	118
Tabla 69. Datos de área y concentración para cada concentración del 4.4'-DDT. ....	120
Tabla 70. Resultados de pendiente intercepto y coeficiente de determinación del 4.4'-DDT. .....	121
Tabla 71. Incertidumbre estándar del 4.4'-DDT. ....	121
Tabla 72. Incertidumbre u patrón del 4.4'-DDT. ....	121
Tabla 73. Incertidumbres y sus porcentajes del 4.4'-DDT.....	122
Tabla 74. Incertidumbre para cada nivel de concentración del 4.4'-DDT.....	122
Tabla 75. Establecimiento del porcentaje de residual más elevado del 4.4'-DDT.....	123
Tabla 76. Falta de ajuste (fa) del 4.4'-DDT. ....	123
Tabla 77. % Falta de ajuste del 4.4'-DDT.....	124
Tabla 78. Incertidumbre, expandida k: 2 del 4.4'-DDT.....	124
Tabla 79. Datos de área y concentración para cada concentración del 4.4'-DDD.....	125
Tabla 80. Resultados de pendiente intercepto y coeficiente de determinación del 4.4'-DDD. .....	126
Tabla 81. Incertidumbre estándar del 4.4'-DDD.....	126
Tabla 82. Incertidumbre u patrón del 4.4'-DDD.....	126
Tabla 83. Incertidumbres y sus porcentajes del 4.4'-DDD. ....	127
Tabla 84. Incertidumbre para cada nivel de concentración del 4.4'-DDD.....	127
Tabla 85. Establecimiento del porcentaje de residual más elevado del 4.4'-DDD. ....	128
Tabla 86. Falta de ajuste (fa) del 4.4'-DDD.....	129
Tabla 87. % Falta de ajuste del 4.4'-DDD. ....	129
Tabla 88. Incertidumbre, expandida k: 2 del 4.4'-DDD.....	129
Tabla 89. Datos de área y concentración para cada concentración del 4.4'-DDE. ....	130
Tabla 90. Resultados de pendiente intercepto y coeficiente de determinación del 4.4'-DDE. .....	131
Tabla 91. Incertidumbre estándar del 4.4'-DDE. ....	131

Tabla 92. Incertidumbre u patrón del 4.4'-DDE. ....	131
Tabla 93. Incertidumbres y sus porcentajes del 4.4'-DDE.....	132
Tabla 94. Incertidumbre para cada nivel de concentración del 4.4'-DDE. ....	132
Tabla 95. Establecimiento del porcentaje de residual más elevado del 4.4'-DDE.....	133
Tabla 96. Falta de ajuste (fa) del 4.4'-DDE. ....	134
Tabla 97. % Falta de ajuste del 4.4'-DDE.....	134
Tabla 98. Incertidumbre, expandida k: 2 del 4.4'-DDE. ....	134
Tabla 99. Incertidumbre de los equipos de medición utilizados para 4.4'-DDT. 4.4'-DDD y 4.4'-DDE. ....	135
Tabla 100. Incertidumbre repetibilidad, reproducibilidad, para el estándar más bajo (0,50 ug/L) y exactitud para el CRM del 4.4'-DDT. ....	135
Tabla 101. Incertidumbre repetibilidad, reproducibilidad, para el estándar más bajo (0,50 ug/L) y exactitud para el CRM del 4.4'-DDD.....	135
Tabla 102. Incertidumbre repetibilidad, reproducibilidad, para el estándar más bajo (0,50 ug/L) y exactitud para el CRM del 4.4'-DDE. ....	136
Tabla 103. Valores de incertidumbre acumulada y expandida del 4.4'-DDT.....	136
Tabla 104. Valores de incertidumbre acumulada y expandida del 4.4'-DDD. ....	136
Tabla 105. Valores de incertidumbre acumulada y expandida del 4.4'-DDE.....	136
Tabla 106. Resumen Estadístico para Área del 4.4'-DDT. ....	137
Tabla 107. Tabla ANOVA Área por Concentración del 4.4'-DDT. ....	137
Tabla 108. Tabla de Medias para Área por Concentración con intervalos de confianza del 95,0% del 4.4'-DDT. ....	138
Tabla 109. Verificación de la Varianza del 4.4'-DDT. ....	138
Tabla 110. Resumen Estadístico para Área del 4.4'-DDD.....	139
Tabla 111. Tabla ANOVA Área por Concentración del 4.4'-DDD.....	139
Tabla 112. Tabla de Medias para Área por Concentración con intervalos de confianza del 95,0% del 4.4'-DDD.....	139
Tabla 113. Verificación de la Varianza del 4.4'-DDD.....	139
Tabla 114. Resumen Estadístico para Área del 4.4'-DDE. ....	140
Tabla 115. Tabla ANOVA Área por Concentración del 4.4'-DDE. ....	141
Tabla 116. Tabla de Medias para Área por Concentración con intervalos de confianza del 95,0% del 4.4'-DDE. ....	141
Tabla 117. Verificación de la Varianza del 4.4'-DDE. ....	141

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Requisitos del Agua Potable, Norma INEN 1108:2011. ....	13
Figura 2. Problemas de Contaminación, Asociados con la Calidad del Agua. ....	14
Figura 3. Actividad y Utilidad de los Plaguicidas. ....	16
Figura 4. Uso de los Plaguicidas en las Plantaciones. ....	17
Figura 5. Uso por Tipo de Plaguicidas. ....	17
Figura 6. Clasificación según su uso y composición química. ....	19
Figura 7. Nombres genéricos y comerciales de plaguicidas organoclorados más conocidos. .....	24
Figura 8. Acondicionamiento. ....	34
Figura 9. Retención. ....	35
Figura 10. Lavado. ....	35
Figura 11. Secado. ....	36
Figura 12. Elución. ....	36
Figura 13. Disolventes de extracción. ....	39
Figura 14. Tipos de Cromatografía. ....	40
Figura 15. Diagrama de las partes básicas de un cromatógrafo de gases. ....	42
Figura 16. Total de Errores. ....	57
Figura 17. Diagrama con los pasos para la determinación de la incertidumbre. ....	57
Figura 18. Diagrama general y los pasos principales que se deben tomar en cuenta para la validación. ....	58
Figura 19. Parámetros estadísticos de validación. ....	61
Figura 20. Prueba Make up e Inyección Splitless. ....	67
Figura 21. Diagrama de flujo para la determinación de DDT, DDD y DDE. ....	74
Figura 22. Curva de calibración 0,50 ug/l día 1 estándar 4.4'-DDT. ....	184
Figura 23. Curva de calibración 0,50 ug/l día 2 estándar 4.4'-DDT. ....	184
Figura 24. Curva de calibración 0,50 ug/l día 3 estándar 4.4'-DDT. ....	185
Figura 25. Curva de calibración 1,00 ug/l día 1 estándar 4.4'-DDT. ....	185
Figura 26. Curva de calibración 1,00 ug/l día 2 estándar 4.4'-DDT. ....	186
Figura 27. Curva de calibración 1,00 ug/l día 3 estándar 4.4'-DDT. ....	186
Figura 28. Curva de calibración 1,50 ug/l día 1 estándar 4.4'-DDT. ....	187
Figura 29. Curva de calibración 1,50 ug/l día 2 estándar 4.4'-DDT. ....	187
Figura 30. Curva de calibración 1,50 ug/l día 3 estándar 4.4'-DDT. ....	188

Figura 31. Curva de calibración 2,00 ug/l día 1 estándar 4.4'-DDT. ....	188
Figura 32. Curva de calibración 2,00 ug/l día 2 estándar 4.4'-DDT. ....	189
Figura 33. Curva de calibración 2,00 ug/l día 3 estándar 4.4'-DDT. ....	189
Figura 34. Curva de calibración 0,50 ug/l día 1 estándar 4.4'-DDD.....	190
Figura 35. Curva de calibración 0,50 ug/l día 2 estándar 4.4'-DDD.....	190
Figura 36. Curva de calibración 0,50 ug/l día 3 estándar 4.4'-DDD.....	191
Figura 37. Curva de calibración 1,00 ug/l día 1 estándar 4.4'-DDD.....	191
Figura 38. Curva de calibración 1,00 ug/l día 2 estándar 4.4'-DDD.....	192
Figura 39. Curva de calibración 1,00 ug/l día 3 estándar 4.4'-DDD.....	192
Figura 40. Curva de calibración 1,50 ug/l día 1 estándar 4.4'-DDD.....	193
Figura 41. Curva de calibración 1,50 ug/l día 2 estándar 4.4'-DDD.....	193
Figura 42. Curva de calibración 1,50 ug/l día 3 estándar 4.4'-DDD.....	194
Figura 43. Curva de calibración 2,00 ug/l día 1 estándar 4.4'-DDD.....	194
Figura 44. Curva de calibración 2,00 ug/l día 2 estándar 4.4'-DDD.....	195
Figura 45. Curva de calibración 2,00 ug/l día 3 estándar 4.4'-DDD.....	195
Figura 46. Curva de calibración 0,50 ug/l día 1 estándar 4.4'-DDE. ....	196
Figura 47. Curva de calibración 0,50 ug/l día 2 estándar 4.4'-DDE. ....	196
Figura 48. Curva de calibración 0,50 ug/l día 3 estándar 4.4'-DDE. ....	197
Figura 49. Curva de calibración 1,00 ug/l día 1 estándar 4.4'-DDE. ....	197
Figura 50. Curva de calibración 1,00 ug/l día 2 estándar 4.4'-DDE. ....	198
Figura 51. Curva de calibración 1,00 ug/l día 3 estándar 4.4'-DDE. ....	198
Figura 52. Curva de calibración 1,50 ug/l día 1 estándar 4.4'-DDE. ....	199
Figura 53. Curva de calibración 1,50 ug/l día 2 estándar 4.4'-DDE. ....	199
Figura 54. Curva de calibración 1,50 ug/l día 3 estándar 4.4'-DDE. ....	200
Figura 55. Curva de calibración 2,00 ug/l día 1 estándar 4.4'-DDE. ....	200
Figura 56. Curva de calibración 2,00 ug/l día 2 estándar 4.4'-DDE. ....	201
Figura 57. Curva de calibración 2,00 ug/l día 3 estándar 4.4'-DDE. ....	201
Figura 58. Curva de calibración para el 4.4'-DDT (promedio).....	80
Figura 59. Curva de calibración para el 4.4'-DDD (promedio). ....	81
Figura 60. Curva de calibración para el 4.4'-DDE (promedio).....	81
Figura 61. Mejor curva Día 1 del 4.4'-DDT. ....	89
Figura 62. Mejor curva Día 3 del 4.4'-DDD. ....	92
Figura 63. Mejor curva Día 1 del 4.4'-DDE. ....	95

Figura 64. Medias de concentración vs área y 95 % de Fisher del 4.4'-DDT.....	138
Figura 65. Medias de concentración vs área y 95 % de Fisher del 4.4'-DDD.....	140
Figura 66. Medias de concentración vs área y 95 % de Fisher del 4.4'-DDE.....	142

## ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Sistema para Extracción en Fase Sólida.....	34
Gráfico 2. Cromatógrafo de Gases con Autosampler y Detector de Captura de Electrones (ECD). .....	41
Gráfico 3. Gas Nitrógeno 99.999% puro.....	42
Gráfico 4. Autosampler (Inyector). .....	44
Gráfico 5. Columna Capilar para Plaguicidas Organoclorados.....	45
Gráfico 6. Horno con Columna Capilar. ....	46
Gráfico 7. Línea base Prueba 1 (cromatograma).....	64
Gráfico 8. Línea base Prueba 2 (cromatograma).....	65
Gráfico 9. Línea base Prueba 3 línea base estable (cromatograma).....	66
Gráfico 10. Ajustes software cromatógrafo de gases. ....	68
Gráfico 11. Línea base final óptima (cromatograma). (Anexo D). ....	69
Gráfico 12. Estándares puros de plaguicidas organoclorados. ....	70
Gráfico 13. Diluciones de los estándares de plaguicidas. ....	70
Gráfico 14. Identificación del DDT. (Anexo D). ....	75
Gráfico 15. Identificación del DDD. (Anexo D).....	75
Gráfico 16. Identificación del DDE. (Anexo D). ....	76
Gráfico 17. Curva de calibración para el 4.4'-DDT (equipo). (Anexo D).....	82
Gráfico 18. Curva de calibración para el 4.4'-DDD (equipo). (Anexo D).....	82
Gráfico 19. Curva de calibración para el 4.4'-DDE (equipo). (Anexo D).....	83
Gráfico 20. Límites de detección y cuantificación 4.4'-DDT, 4.4'-DDD y 4.4'-DDE (equipo) (Anexo D). ....	83
Gráfico 21. Cuantificación 4.4'-DDT, 4.4'-DDD, 4.4'-DDE y CRM (equipo). (Anexo D). .....	86
Gráfico 22. Ampolla material de referencia certificado (CRM). ....	110
Gráfico 23. Extracción en fase sólida (SPE) del material de referencia certificado (CRM). .....	111
Gráfico 24. Corrida material de referencia certificado (CRM). (Anexo D).....	112
Gráfico 25. Picos estándares vs material de referencia certificado (CRM). (Anexo D). ..	118

## ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO A.....	156
Fotos.....	157
ANEXO B.....	160
CRM.....	161
Fichas Técnicas Plaguicidas Organoclorados.....	163
Formato CONSEP (consumo de solventes orgánicos) .....	166
ANEXO C.....	170
Norma INEN 1108-2011.....	171
Lista de plaguicidas prohibidos en el Ecuador. ....	179
Tabla t de Student .....	181
Tabla prueba de F.....	182
ANEXO D.....	183
Todas las curvas de las corridas.....	184
Gráficos y datos del equipo.....	202



## RESUMEN

Los plaguicidas ocupan un lugar importante dentro de las sustancias químicas a las que el hombre está expuesto, por su alto grado de contaminación en el medio ambiente. Frente a la necesidad de analizar estos compuestos y que los resultados obtenidos sean confiables y oportunos, el objetivo de este trabajo consiste en la estandarización del método por cromatografía de gases para determinar plaguicidas organoclorados en el agua potable. Para el desarrollo y aplicación del mismo se utilizó como referencia los métodos estandarizados de la Agencia de Protección Ambiental (EPA). El análisis se basa en la comparación del área del pico del componente de interés con la de estándares de esta sustancia de concentración conocida, admitiendo que existe una relación lineal entre el área del pico y la concentración en un determinado intervalo de concentraciones. El método más sencillo de la calibración consiste en el uso de patrones externos.

Los datos obtenidos se han realizado con los modelos establecidos de validación (exactitud, linealidad, precisión, entre otros). La preparación de los estándares se realizó a partir de un patrón puro de 4,4'-DDT, 4,4'-DDD y 4,4'-DDE, de concentración 1000 mg/l (ppm), realizando las respectivas diluciones hasta llegar a 0,050 ug/l (ppb), 1.00 ug/l (ppb), 1.50 ug/l (ppb) y 2,00 ug/l (ppb) que están en el rango de la norma INEN 1108:2011. Para el análisis de una muestra de agua potable, se utilizó la extracción en fase sólida (SPE), con hexano, metanol y cloruro de metileno, previo a la cuantificación por cromatografía de gases.

El procedimiento estadístico fue realizado por un diseño experimental no probabilístico, empleando la muestra de referencia (CRM) con concentraciones certificadas de 4,4'-DDT = 1,35 ug/l, 4,4'-DDD = 1,15 ug/l y 4,4'-DDE = 1,47 ug/l, siguiendo el protocolo señalado por el fabricante. Se determinó los parámetros de validación para cada uno de los plaguicidas organoclorados, obteniendo resultados estadísticos favorables de linealidad con un coeficiente de correlación aceptable, los resultados del límite de detección, el límite de cuantificación, el porcentaje de coeficiente de variación de repetibilidad, el porcentaje de coeficiente de variación de reproducibilidad, la exactitud se determinó con la muestra de referencia (CRM) con el sesgo y una prueba de t de Student de dos colas se concluyó que no existe una diferencia significativa entre la lectura en el equipo y la concentración certificada por el (CRM). El análisis de varianza basado en la prueba ANOVA de Fisher demostró que todos los datos están dentro del límite de aceptación Con la determinación de

la incertidumbre se concluyó que el método está validado con una incertidumbre expandida aceptable.

**Palabras claves:** validación, linealidad, coeficiente de variación, material de referencia certificado (CRM), exactitud, incertidumbre.

## SUMMARY

Pesticides play an important role within the chemicals where man are exposed, due to its high degree of pollution in the environment. It's necessary to analyze these compounds and the results obtained that are reliable and timely, the goal of this work is to standardize the method by gas chromatography in order to determine organochlorine pesticides in drinking water. For the developing the implementation it was used as reference standardized methods from the Environmental Protection Agency (EPA). The analysis is based on comparing the peak area of the component of interest with standards that are known. By admitting the concentration of this substance, where there is a linear relationship between the peak area and the concentration in a certain range. The simplest method of calibration involves the use of external standards.

The data obtained was established with models validation (accuracy, linearity, accuracy, etc.). The preparation of standards was made from a pure pattern 4,4'-DDT, DDD and 4,4'-4,4'-DDE, concentration 1000 mg / l (ppm), by performing their respective dilutions up to 0,050 ug / L (ppb), 1.00 ug / L (ppb), 1.50 ug / L (ppb) and 2.00 ug / L (ppb) which are in a range of a standard of INEN 1108: 2011. In order to analyze a sample of drinking water, solid phase extraction (SPE) with hexane, methanol and methylene chloride, prior to quantification by gas chromatography it was used.

The statistical procedure was performed by a non-probabilistic experimental design, where it was used the reference sample (CRM) with certified concentrations 4,4'-DDT = 1.35 ug / L, 4,4'-DDD = 1.15 ug / L, 4,4'- DDE = 1.47 ug / L, following the protocol specified by the manufacturer. It was determined a validation parameters for each of organochlorine pesticides, obtaining favorable linearity statistical results with an acceptable coefficient of correlation. The results of the detection limit, the limit of quantification, the percentage of variation coefficient of repeatability, the percentage coefficient of variation of reproducibility, the accuracy was determined with the reference sample (CRM) with bias and t test of two-tailed Student by concluding that there is no significant difference between reading on the computer and the certified concentration by (CRM). The analysis of variance based on Fisher's ANOVA showed that all the data are within the acceptance limit with the determination of the uncertainty. Finally, the method is validated with acceptable uncertainty expanded.

**Keywords:** validation, linearity, coefficient of variation, certified reference material (CRM), accuracy, uncertainty.

# CAPÍTULO 1 INTRODUCCIÓN

## 1.1 ANTECEDENTES.

Desde su aparición en los años 40 del siglo XX, los plaguicidas han sido ampliamente usados en la agricultura, veterinaria y salud pública en muchos países; además son resultado del antiguo anhelo del ser humano por librarse de plagas que invaden su modo de vida; en la actualidad se conoce que estos compuestos son venenos peligrosos para la salud y para el medio ambiente.

El empleo de los plaguicidas organoclorados ha despertado una gran preocupación ya que son sustancias altamente persistentes en el medio ambiente, además su proceso de degradación ha desencadenado otros metabolitos que también resultan perjudiciales. (Delgado, 2014)

Con el transcurso de los años en el Ecuador se han establecido normativas, leyes y prohibiciones para la fabricación y uso de plaguicidas en la agricultura como en la industria, de tal forma que se ha limitado su producción, importación y aplicación, es por eso que se han llegado a prohibir algunos plaguicidas en el país. Organizaciones internacionales como la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO), la Unidad de Registro de Plaguicidas de Uso Agrícola de la Comunidad Andina, entidades estatales como el Instituto Nacional Ecuatoriano de Normalización (INEN), la Agencia Ecuatoriana de Aseguramiento de la Calidad del Agro (Agrocalidad), entre otras, regulan y controlan los productos de uso agrícola e industrial en el Ecuador, con el objetivo de garantizar su inocuidad, calidad y eficacia para la prevención y control de plagas a nivel de cultivos, obteniendo productos agrícolas inocuos para el consumo local y la exportación. (AGROCALIDAD, 2014)

Por otra parte la Empresa Municipal de Agua Potable y Alcantarillado de Ibarra tiene como finalidad la captación, tratamiento, distribución, producción y venta de agua potable, además ofrece los servicios de alcantarillado en el cantón Ibarra, cuenta con un laboratorio de Control de Calidad de Agua que tiene la responsabilidad de realizar todos los análisis necesarios de aguas potables, crudas y residuales, cumpliendo con las normativas Ecuatorianas de control INEN. (EMAPA-I, 2014)

“Los laboratorios que realizan análisis de plaguicidas en agua, mediante la técnica de cromatografía de gases son muy pocos y su importancia en la salud humana es vital ya que los efectos pueden llevar a graves enfermedades e incluso la muerte.” (Jarrín, 2011)

Según la (OMS, 2014) informa que “Los casos de intoxicación aguda por plaguicidas son una causa importante de morbilidad y mortalidad a nivel mundial. Los países en desarrollo son particularmente los más vulnerables”.

## **1.2 PROBLEMA.**

En el Ecuador, los plaguicidas han sido usados desde hace varias décadas atrás, el DDT se utilizó en la zona selvática ecuatoriana a partir del año 1946, lo cual resultó de gran éxito para eliminar las plagas de aquella época, el plaguicida fue utilizado en el país hasta el año 1999. (Echeverría, 2013)

El uso continuo y desaprensivo de agro tóxicos, ha generado que se establezcan normativas que regulen la fabricación, uso y expendio de los mismos debido a su alta toxicidad, lo peligroso de éstos compuestos es que su degradación requiere decenios, por lo que su persistencia en el medio ambiente (aire, suelo y agua) será una incógnita. (Jarrín, 2011)

En el cantón de Ibarra las fuentes naturales de agua que proveen a las Plantas de Tratamiento de Agua Potable, provienen de vertientes y pozos los cuales se encuentran en su mayor parte en los sectores rurales en donde existen o existieron, cultivos agrícolas, invernaderos, industrias, granjas, entre otros; en donde se han utilizado o se utilizan insecticidas, herbicidas, fungicidas y plaguicidas los cuales pudieron generar una contaminación en el medio ambiente. La contaminación también puede abarcar a ciertos subproductos agrícolas usados en la elaboración de alimentos, balanceados o de forraje para animales, lo cual puede influir en la mala calidad de estos, los efectos indeseados producidos por los plaguicidas pueden generar graves enfermedades e incluso la muerte.

(Báez, 2010) Los plaguicidas pueden llegar a contaminar los acuíferos debajo de la tierra cuando son esparcidos en los campos de las cosechas y si existen filtraciones de agua superficial contaminada, pueden ocurrir derramamientos accidentales que se filtran a través de grietas. Otro problema lo representa el manejo inadecuado de los desechos.

El Laboratorio de Control de calidad de Agua de la Empresa Municipal de Agua potable y Alcantarillado de Ibarra, no cuenta con un método cromatográfico validado para la determinación de plaguicidas organoclorados en el agua potable, teniendo en cuenta que el laboratorio tiene los equipos necesarios para realizar los análisis de dichos compuestos.

### **1.3 JUSTIFICACIÓN.**

En el Ecuador, son pocos los laboratorios que realizan análisis para determinar plaguicidas organoclorados por cromatografía de gases y el laboratorio de control de calidad de agua de la Empresa Municipal de Agua Potable y Alcantarillado de la ciudad de Ibarra, está empeñado en el desarrollo de estos procedimientos, para dar cumplimiento a los requerimientos exigidos por los organismos de control, además servirá para el proceso de acreditación del laboratorio en la NORMA ISO-17025. Actualmente la EMAPA-I, provee de agua potable a aproximadamente 108055 habitantes en el cantón Ibarra.

Una información adecuada se obtiene a partir de resultados confiables mediante la aplicación de métodos cromatográficos validados, mediante el cual se establece a través de estudios de laboratorio, que las características representativas del método a establecerse cumpla con las especificaciones para su aplicación y genere datos fiables, para determinar la concentración de plaguicidas organoclorados en el agua potable. Actualmente, el laboratorio de control de calidad de agua de la EMAPA-I no cuenta con el método para determinar plaguicidas organoclorados, por lo que la presente investigación es fundamental para llevar el control de plaguicidas organoclorados en todos sectores y brindar un servicio de calidad cumpliendo con la NORMA TÉCNICA ECUATORIANA 1108: 2011 (cuarta edición) AGUA POTABLE. REQUISITOS.

Uno de las aplicaciones cromatográficas de mayor interés últimamente, es el análisis de plaguicidas a nivel residual. Esto se debe a las regulaciones estrictas de muchos países para la comercialización de productos agroalimentarios, por el riesgo directo que representan los residuos de estos compuestos en la salud de los consumidores. La complejidad de las estructuras moleculares de los plaguicidas y la composición adicional de las matrices en donde se investigan, hace imposible la utilización de un procedimiento universal para la determinación de estas sustancias, por tanto se requieren métodos analíticos individuales dependiendo del pesticida o grupo de pesticidas.

La investigación beneficiará principalmente a la población quienes utilizan los servicios de agua para consumo y sus aplicaciones en la agricultura, ganadería, industria en procesamiento de alimentos, entre otros. La Aplicación de ésta metodología, en conjunto con la Universidad Técnica del Norte y la Facultad de Ingeniería en Ciencias



Agropecuarias y Ambientales, puede servir para futuras investigaciones de análisis en el agua y de otros alimentos.

La estandarización del método por cromatografía de gases para determinar plaguicidas organoclorados en el agua potable, es desarrollado tomándose como referencia los métodos estandarizados de la Agencia de Protección Ambiental EPA de los Estados Unidos, y aplicado a los equipos utilizados en el laboratorio de control de calidad de agua de la EMAPA-I.

## **1.4 OBJETIVOS.**

### **1.4.1 OBJETIVO GENERAL.**

Estandarizar el método por cromatografía de gases para determinar plaguicidas organoclorados en el agua potable.

### **1.4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.**

- Ajustar la metodología analítica del cromatógrafo de gases para la cuantificación de plaguicidas organoclorados.
- Validar parámetros estadísticos de los resultados (linealidad, exactitud, precisión, límite de detección, límite de cuantificación, sensibilidad).
- Estimar la incertidumbre de medición del análisis de plaguicidas mediante la técnica de cromatografía de gases.

## **1.5 HIPÓTESIS.**

### **1.5.1 HIPÓTESIS NULA.**

No es posible la determinación de plaguicidas organoclorados en el agua potable, por medio de la técnica de cromatografía de gases.

### **1.5.2 HIPÓTESIS ALTERNATIVA.**

Si es posible la determinación de plaguicidas organoclorados en el agua potable, por medio de la técnica de cromatografía de gases.

## **1.6 VARIABLES.**

### **1.6.1 VARIABLE DEPENDIENTE.**

Cuantificación de plaguicidas organoclorados en el agua potable para cumplir NORMA INEN 1108.

### **1.6.2 VARIABLE INDEPENDIENTE.**

Validación de la técnica para determinación de plaguicidas organoclorados.

## **CAPÍTULO 2 MARCO TEÓRICO**

### **2.1 EL AGUA.**

(Sierra C. , 2011) Es un elemento esencial para la vida, sin ella el hombre no podría existir. Toda población o comunidad ha buscado asentamientos cerca de una fuente de agua. El agua circula naturalmente a través de los océanos, la atmósfera, lagos y ríos, glaciares y aguas subterráneas. La circulación constante del agua desde los océanos a la atmósfera (evaporación), desde la atmósfera a la Tierra o de regreso a los océanos (precipitación) y desde la Tierra a los océanos y atmósfera (evaporación y escorrentía) puede ser llamada el ciclo planetario del agua, y existen muchos subciclos regionales y locales.

Las aguas superficiales (lagos de agua dulce, ríos, lagunas, vertientes) y las aguas subterráneas (pozos, acuíferos), son las que el hombre utiliza para desarrollar sus funciones básicas (abastecimiento de agua potable, navegación, recreación, etc.), desafortunadamente son las que se encuentran más contaminadas.

### **2.2 TIPOS DE AGUA.**

Existen diferentes tipos de agua, de acuerdo a su procedencia y uso se pueden clasificar en: agua cruda, agua potable y agua residual.

#### **2.2.1 AGUA CRUDA.**

Según la norma (INEN. 1108, 2011) el agua cruda “Es el agua que se encuentra en la naturaleza y que no ha recibido ningún tratamiento para modificar sus características: físicas, químicas o microbiológicas.”

#### **2.2.2 AGUA POTABLE.**

Según la norma (INEN. 1108, 2011) el agua potable “Es el agua cuyas características físicas, químicas y microbiológicas han sido tratadas a fin de garantizar su aptitud para consumo humano.”

El agua potable que puede ser consumida sin restricción debido a que, gracias a un proceso de purificación, no representa un riesgo para la salud. El término se aplica a el agua que cumple con las normas de calidad.

La calidad del agua potable es una cuestión que preocupa en países de todo el mundo, en desarrollo y desarrollados, por su repercusión en la salud de la población. Son factores de

riesgo los agentes infecciosos, los productos químicos tóxicos y la contaminación radiológica. (OMS, 2014)

El agua potable debe cumplir con los parámetros de las normativas ecuatorianas que se establecen a continuación (norma completa se encuentra en el Anexo C):

<b>Requisitos del Agua Potable</b>	
<b>PARÁMETRO</b>	<b>UNIDAD</b>
<b>Características Físicas</b>	
Color	Platino-Cobalto (Pt-Co)
Turbiedad	Nefelométrica de turbidez (NTU)
Olor	no objetable
Sabor	no objetable
Inorgánicos	miligramos/ Litro (mg/l)
<b>Sustancias Orgánicas</b>	
Hidrocarburos	(mg/l)
<b>Plaguicidas</b>	
Residuos de desinfectantes	(mg/l)
Subproductos de desinfección	(mg/l)
Ciano toxinas	(mg/l)
<b>Requisitos Microbiológicos</b>	
	Unidades formadas de colonias /mililitro
Coliformes fecales	(UFC/ml)
Cryptosporidium	(UFC/ml)
Giardia	(UFC/ml)

**Figura 1.** Requisitos del Agua Potable, Norma INEN 1108:2011.  
Adaptación de norma (INEN. 1108, 2011) Anexo C.

### 2.2.3 AGUA RESIDUAL.

Según (Toasa, 2012) el agua residual “Son aguas de composición variada provenientes de las descargas de usos municipales, industriales, comerciales, agrícolas, domésticos y similares; así como la mezcla de ellas.

## 2.3 CALIDAD DEL AGUA.

La calidad de cualquier masa de agua, superficial o subterránea depende tanto de factores naturales como de la acción humana. Sin la acción humana, la calidad del agua vendría determinada por la erosión del substrato mineral, los procesos atmosféricos de evapotranspiración y sedimentación de lodos y sales, la lixiviación natural de la materia orgánica y los nutrientes del suelo, por los factores hidrológicos, y los procesos biológicos en el medio acuático que pueden alterar la composición física y química del agua. Por lo general, la calidad del agua se determina comparando las características físicas y químicas de una muestra de agua con unas directrices de calidad del agua o estándares. (ONU, 2014)

<b>Problemas de Contaminación, Asociados con la Calidad del Agua.</b>		
<b>Aparición del Problema</b>	<b>Problemas</b>	<b>Variables</b>
Mortalidad de peces, olores molestos, organismos desagradables	Oxígeno disuelto (OD) bajo	Demanda biológica de oxígeno(DBO), Sólidos orgánicos, fitoplacton, (OD)
Transmisión de enfermedades	Niveles altos de bacterias Crecimiento excesivo de plantas	Coliformes totales, coliformes fecales, estreptococos, virus
Sabor y olor (algas)	Niveles altos de toxicidad	Nitrógeno, fosforo, fitoplacton Metales pesados, sustancias radiactivas, plaguicidas, herbicidas
Carcinógenos en el agua potable		

**Figura 2.** Problemas de Contaminación, Asociados con la Calidad del Agua.  
(Sierra C. , 2011)

## 2.4 PLAGUICIDA.

Es cualquier sustancia destinada a prevenir, destruir, atraer, repeler o combatir cualquier plaga, incluidas las especies indeseadas de plantas o animales, durante la producción, almacenamiento, transporte, distribución y elaboración de alimentos, productos agrícolas o alimentos para animales, o que pueda administrarse a los animales para combatir ectoparásitos. El término incluye las sustancias destinadas a utilizarse como reguladores del crecimiento de las plantas, defoliantes, desecantes, agentes para reducir la densidad de fruta o inhibidores de la germinación, y las sustancias aplicadas a los cultivos antes o después de la cosecha para proteger el producto contra la deterioración durante el almacenamiento y transporte. El término no incluye normalmente los fertilizantes,

nutrientes de origen vegetal o animal, aditivos alimentarios ni medicamentos para animales. (FAO, 2014)

## **2.5 USO DE PLAGUICIDAS.**

(De Romedi, Nassetta, & Córpora, 2011) Afirman que “Dado el amplio uso de los plaguicidas, estos ocupan un lugar importante dentro de las sustancias químicas a las que el hombre esta expuesto. Los principales usos de los plaguicidas son agrícolas, pecuarios, forestales, industriales, y en salud pública.”

Si bien los beneficios obtenidos por el uso de plaguicidas son numerosos, la utilización a escala mundial de grandes cantidades de estos compuestos ha dado origen a un conjunto de problemas que afectan al medio ambiente y a la salud humana. De hecho, el uso continuado e incontrolado de los plaguicidas, así como la elevada persistencia de muchos de ellos en el medio ambiente, ha provocado la aparición de problemas que inciden directamente sobre la salud humana y la supervivencia de numerosas especies. En este sentido, es posible encontrar residuos de plaguicidas en frutas, verduras, aguas, suelos, etc. como consecuencia de su utilización en actividades agrícolas, industriales y domésticas. (Revelo, 2010)

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

**Figura 3.** Actividad y Utilidad de los Plaguicidas.  
(Revelo, 2010)

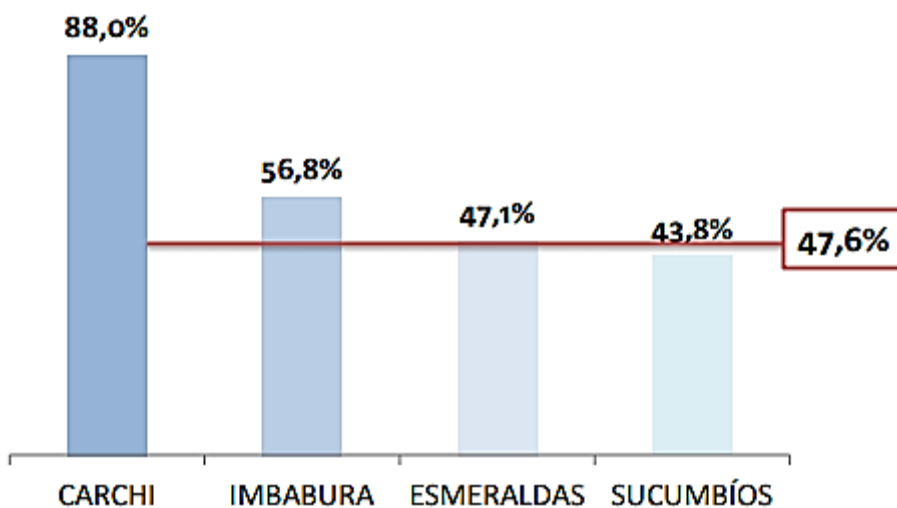
## **2.6 CONTAMINACIÓN DE LOS PLAGUICIDAS EN EL MEDIO AMBIENTE.**

El efecto de los plaguicidas sobre el terreno sembrado se expande hacia el aire y con mayor perjuicio se instala en el agua, contaminando las napas subterráneas, los ríos y lagos, así como los alimentos cultivados en terrenos donde se utilizó. Por eso su uso se debe reducir al mínimo indispensable. (Avalos, 2010)

Uno de los principales problemas identificados son las inadecuadas prácticas agrícolas y pecuarias, es por este motivo que se crea la necesidad de generar información (indicadores ambientales y de salud), el Instituto Nacional de Estadísticas y Censos (INEC, 2012) en lo que respecta a los al uso de los plaguicidas en las Unidades de Producción Agropecuaria (UPAs.), en la zona de planificación 1 (Carchi, Esmeraldas, Imbabura y Sucumbíos), presenta los siguientes datos obtenidos en la Encuesta sobre el uso de agroquímicos y su destino final en la agricultura realizada en el año 2012.

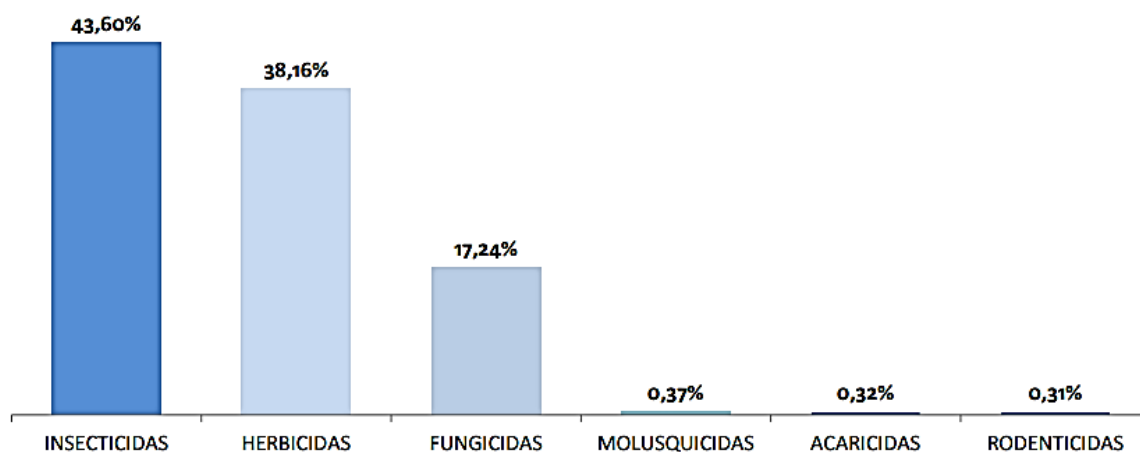


Según el Uso de los Plaguicidas en las Plantaciones, el 47,6% de Unidades de Producción Agropecuaria utiliza plaguicidas en las plantaciones, la muestra de población encuestada fue de 83440 UPAs.



**Figura 4.** Uso de los Plaguicidas en las Plantaciones.  
(INEC, 2012)

Según el Uso por tipo de Plaguicidas, el 43.60% de Unidades de Producción Agropecuaria utiliza, insecticidas para el control de plagas y malezas, la muestra de población encuestada fue de 41748 UPAs.



**Figura 5.** Uso por Tipo de Plaguicidas.  
(INEC, 2012)

## **2.7 REPERCUSIÓN DE LOS PLAGUICIDAS EN LA SALUD HUMANA Y EN LOS ALIMENTOS.**

(Anguiano & Montagna, 2012) Simultáneamente con el aumento del uso de plaguicidas, crecieron muy significativamente las enfermedades asociadas con los mismos por su alto grado de toxicidad. Anualmente se intoxican dos millones de personas por exposición directa o indirecta a plaguicidas. De ese total, las 3/4 partes de afectados pertenecen a los países subdesarrollados, donde únicamente se utiliza el 25% de la producción mundial de plaguicidas.

Según la (OMS, 2014) informa que “Los casos de intoxicación aguda por plaguicidas son una causa importante de morbilidad y mortalidad a nivel mundial. Los países en desarrollo son particularmente los más vulnerables”.

(Liga Ciudadana de Defensa de los Consumidores de Chile, 2010) Los plaguicidas pueden estar presentes en los alimentos como residuos del tratamiento de las tierras y cosechas. Las papas, manzanas, frutas cítricas, el maíz, la soja y el trigo pueden estar particularmente contaminados. Los plaguicidas y sus residuos se han encontrado también en la leche materna, debido a que estos compuestos son solubles en su grasa, se ha determinado que esta leche contiene los plaguicidas en las madres provenientes de los alimentos consumidos. También es motivo de preocupación la posible aparición de múltiples plaguicidas en los alimentos comerciales para lactantes, especialmente fórmulas lácteas y alimentos basados en frutas y vegetales. Los residuos de plaguicidas presentes en frutas y vegetales representa una preocupación para los consumidores por sus efectos negativos en salud, se pueden encontrar tanto en alimentos frescos como también en alimentos procesados. Sin embargo, los diferentes procesamientos a que son sometidos los alimentos envasados pueden reducir los niveles de residuos de plaguicidas.

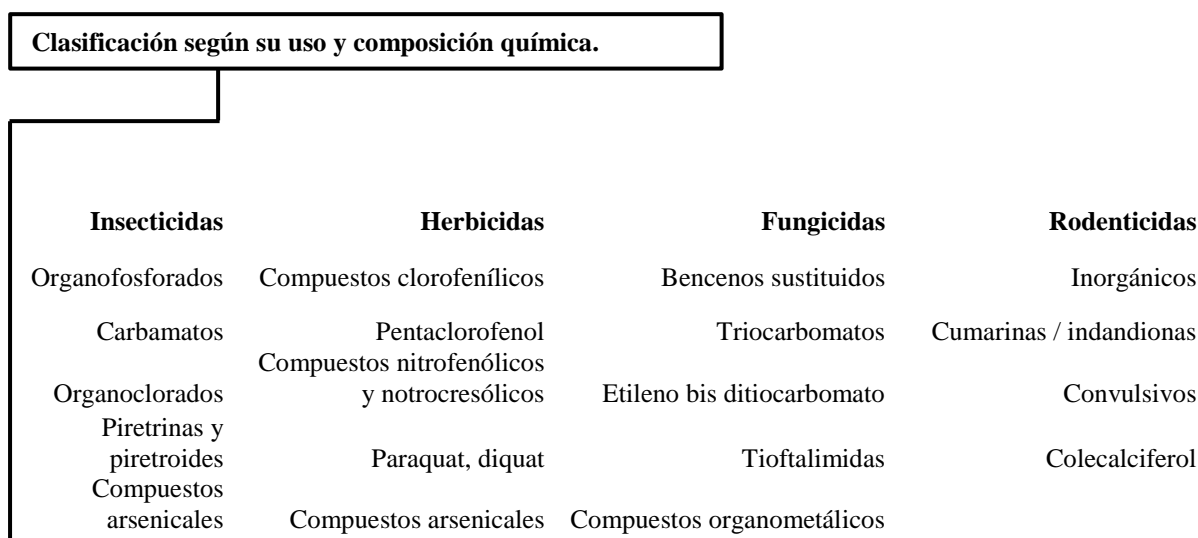
Los plaguicidas pueden absorberse al contacto de la piel, ser inhalados en forma de polvo o vapor, o ingeridos en la comida o en agua contaminada. De esta forma es como las personas resultan ser afectadas directa e indirectamente por plaguicidas.

(Abraham, y otros, 2015) El consumo humano de alimentos de origen animal contaminados con DDT provoca su acumulación y posterior intoxicación, los casos agudos presentan alteraciones gastrointestinales, trastornos neurológicos y parálisis muscular; si la

dosis es elevada puede sobrevenir la muerte por paro respiratorio. Un pez intoxicado puede llegar a tener 10.000 veces más DDT que la cantidad presente en el agua.

## 2.8 CLASIFICACIÓN DE LOS PLAGUICIDAS.

Los plaguicidas pueden clasificarse según su uso y composición química en:



**Figura 6.** Clasificación según su uso y composición química. (OMS, 2014)

## 2.9 PRINCIPALES GRUPOS DE PLAGUICIDAS

Según su peligrosidad e importancia los plaguicidas más representativos son:

### 2.9.1 PLAGUICIDAS CARBAMATOS.

(Reigar & Roberts, 2013) Los carbamatos son sustancias orgánicas corresponde a ésteres derivados de los ácidos N-metil o dimetil carbámico y comprende más de 25 compuestos que se emplean como insecticidas y algunos como fungicidas, herbicidas o nematicidas.

#### 2.9.1.1 Propiedades.

Son plaguicidas no bioacumulables que desaparecen rápidamente por hidrólisis y foto degradación, poseen alta toxicidad, baja estabilidad química y su nula acumulación en los tejidos.

#### 2.9.1.2 Tóxico cinética.

Ingresan por la vía cutánea, respiratoria o digestiva. No se acumulan en el organismo, su biotransformación se realiza a través de tres mecanismos básicos: hidrólisis, oxidación y conjugación. La eliminación se hace principalmente por vía urinaria.

### **2.9.1.3 Sintomatología.**

Los síntomas y señales están basados en la estimulación nerviosa excesiva. Los envenenamientos carbamáticos tienden a ser de corta duración debido a que la inhibición en el tejido nervioso de la acetilcolinesterasa (ACE), es reversible y los carbamatos son metabolizados más rápidamente.

Los síntomas iniciales de toxicidad seria son la depresión del sistema nervioso central, manifestado a través de coma, convulsiones, hipotonía y efectos nicotínicos, incluyendo la hipertensión y la depresión cardio respiratoria. La disnea, bronco espasmos y broncorrea con una eventual edema pulmonar son otras señales serias.

El malestar, debilidad muscular, mareo y transpiración son síntomas iniciales de envenenamiento. El dolor de cabeza, salivación, náusea, vómito, dolor abdominal y diarrea son a menudo notorios. La miosis con visión borrosa, incoordinación, espasmos musculares y lenguaje lento también son informados.

### **2.9.2 PLAGUICIDAS ORGANOFOSFORADOS.**

(Zhunaula, 2011) Los insecticidas organofosforados los podemos caracterizar por su mecanismo de acción y su estructura química similar a los carbamatos, la toxicidad se produce por inhibición de la acetilcolinesterasa. En la actualidad es uno de los grupos de plaguicidas más ampliamente utilizados en la agricultura, se incluyen más de 200 sustancias químicas que se emplean principalmente como insecticidas y nematicidas. Sin embargo, algunas de ellas se utilizan también como herbicidas, fungicidas, plastificantes y fluidos hidráulicos (en la industria) y como arma de guerra química.

#### **2.9.2.1 Propiedades.**

Son productos poco solubles en agua, muy solubles en solventes orgánicos, generalmente liposolubles, poco volátiles, inestables en el medio ambiente por lo que no se acumulan como residuos.

La principal forma de degradación en el ambiente es la hidrólisis, especialmente en condiciones alcalinas, lo que tiene importancia en el proceso de destrucción del plaguicida.

#### **2.9.2.2 Tóxico cinética.**

Pueden penetrar al organismo por inhalación, ingestión y a través de la piel intacta, debido a su alta liposolubilidad, fenómeno de absorción que se acelera con las altas temperaturas o

en presencia de escoriaciones o dermatitis. Se distribuyen rápidamente por todo los órganos y tejidos, aunque las concentraciones más elevadas alcanzan el hígado y los riñones, los compuestos más lipofílicos pueden almacenarse en pequeñas proporciones en los tejidos grasos y el tejido nervioso.

El mecanismo a través del cual producen toxicidad es por la inhibición de la acetil colinesterasa (ACE), enzima responsable de la destrucción y terminación de la actividad biológica del neurotransmisor acetilcolina (AC).

Con la acumulación de la AC se altera el funcionamiento normal de las fibras nerviosas. Los organofosforados a diferencia de los carbamatos son inhibidores irreversibles de la acetil colinesterasa (ACE). Son fácilmente excretables a través de la orina por un periodo que oscila entre las 24 y 48 horas. (Auquilla, 2015)

### **2.9.2.3 Sintomatología.**

Los signos y síntomas aparecen entre la primera y segunda hora después de la exposición, sin embargo, pueden desarrollarse hasta varias horas más tarde, esto depende principalmente de su solubilidad en grasa y si requieren o no activación metabólica. En exposiciones de tipo dérmica los síntomas son tardíos y son los siguientes.

- Muscarínicos: vómitos, diarreas, dolor y calambres abdominales, bradicardia, broncoespasmo, miosis y aumento de la sudoración y salivación.
- Efectos nicotínicos: calambres musculares, taquicardia, hipertensión, fasciculaciones y parálisis respiratoria, en algunos casos se puede observar midriasis.
- Efectos en el sistema nervioso central: Agitación, confusión, delirio, convulsiones, coma y muerte.
- Neuropatía retardada: Daño en los axones de los nervios periféricos y centrales que se ha asociado con la inhibición de la esterasa neurotóxica. Este síndrome se caracteriza por debilidad o parálisis y parestesia de extremidades, principalmente inferiores. La neuropatía inducida por este tipo de agente se puede manifestar 1 a 3 semanas después de la exposición y perdurar semanas, meses o años.
- Síndrome intermedio: Este ocurre después de la resolución de una crisis colinérgica aguda y dentro de un período de 24 – 96 horas, la cual se caracteriza por parálisis respiratoria y debilidad muscular facial de cuello y de los músculos proximales de las

extremidades. Este síndrome es el resultado al parecer de una alteración pre y post sináptica de la transmisión neuromuscular.

### **2.9.3 PLAGUICIDAS ORGANOCLORADOS.**

Los plaguicidas organoclorados pertenecen a la categoría química de compuestos organoclorados, en razón de que su estructura molecular está basada en átomos de carbono y cloro. El enlace cloro-carbono del anillo aromático-bencénico es muy estable, ofreciendo elevada resistencia a las reacciones de hidrólisis química y degradación biológica y fotolítica, cuanto más elevada cuanto mayor es el número de átomos de cloro. Esta composición acarrea una muy baja solubilidad en agua y alta en lípidos, permitiendo a estas moléculas atravesar fácilmente la estructura fosfolipídica de las membranas biológicas y acumularse en los depósitos de grasa.

En el medio ambiente estos plaguicidas se transforman a través de diversos procesos microbiológicos, químicos y fotoquímicos y su eficacia depende principalmente de las propiedades fisicoquímicas del compuesto específico y de las características del ambiente receptor. Curiosamente, algunos contaminantes orgánicos pueden convertirse también en metabolitos más persistentes que el compuesto original, como ocurre con la conversión metabólica del DDT en DDE y del Aldrin en Dieldrin, metabolito extremadamente persistente en la naturaleza. (Ministerio del Ambiente, 2011)

#### **2.9.3.1 Características y propiedades de los plaguicidas organoclorados.**

Bajo el nombre de plaguicidas organoclorados se agrupa a un número considerable de compuestos sintéticos cuya estructura química corresponde a la de los hidrocarburos clorados, aunque, además de cloro, algunos de ellos poseen oxígeno o azufre, o ambos elementos en su estructura.

La mayoría de estos compuestos es de baja solubilidad en agua y de elevada solubilidad en la mayoría de disolventes orgánicos. Además, en general poseen baja presión de vapor y una alta estabilidad química así como una notable resistencia al ataque de los microorganismos. Estas propiedades permiten comprender el comportamiento de estos compuestos en el ambiente y en los seres vivos. En efecto, su escasa solubilidad en agua y su elevada solubilidad en disolventes orgánicos, permite predecir que estos compuestos y sus productos de transformación tendrán que acumularse en el tejido graso de los organismos vivos, lo que ocurre para la mayoría de estos plaguicidas. Su baja volatilidad,

su gran estabilidad físico-química y su resistencia al ataque de los microorganismos, condicionan que la persistencia de estos plaguicidas en el ambiente sea elevada. En efecto, algunos de los plaguicidas organoclorados están sin duda entre los compuestos que más persisten en el medio, por su estabilidad a la descomposición o degradación.

Este tipo de compuestos se puede encontrar en concentraciones muy diversas, y según su procedencia, pueden agrupar en: formulaciones (productos comerciales concentrados), muestras biológicas (sangre/suero, orina, contenido gástrico) y muestras ambientales (sedimentos, tierra, agua, lixiviados, etc.). (OPS, 2014)

(Henaó & Nieto, 2013) Los plaguicidas cuya estructura química corresponde a la de hidrocarburos clorados aromáticos, aunque algunos de ellos contienen otros elementos, como oxígeno y azufre. Dentro de los compuestos organoclorados más conocidos se encuentran el DDT, metoxicloro, hexaclorociclohexano (HCH), aldrín, endosulfán y canfecloro. El HCH (hexaclorociclohexano) fue sintetizado por Faraday en 1825, pero no fue sino hasta 1940 que se descubrió la capacidad insecticida de uno de sus isómeros. El DDT fue sintetizado en 1874 por Zaidler; se utilizó como insecticida durante la Segunda Guerra Mundial, para el control de piojos y otros insectos que ponían en peligro la salud de las tropas.

Dentro de los plaguicidas organoclorados pueden distinguirse cuatro subgrupos:

#### 2.9.3.1.1 Derivados de hidrocarburos aromáticos:

DDT y compuestos análogos, tales como DDE, DDD, dicofol, metoxicloro y clorobencilato.

#### 2.9.3.1.2 Derivados de hidrocarburos alicíclicos:

Cicloalcanos clorados como los isómeros del hexaclorociclohexano, dentro de los cuales el más conocido es el lindano (isómero gamma).

#### 2.9.3.1.3 Derivados de hidrocarburos ciclodiénicos:

Ciclodienos clorados, Aldrín, dieldrín, endrín, endosulfán, mirex, clordano, heptacloro.

#### 2.9.3.1.4 Derivados de hidrocarburos terpénicos:

Terpenos clorados, canfeclor o toxafeno.

Los plaguicidas organoclorados se utilizaron para combatir insectos vectores de enfermedades de importancia epidemiológica, como por ejemplo, la malaria y el dengue. Son poco solubles en agua estables a la luz solar, a la humedad, al aire y al calor, lo que los hace bastante persistentes en el medio ambiente. Por tal motivo muchos países han prohibido o restringido su uso.

Diferencia entre nombre genéricos y nombres comerciales:

Nombres genéricos y comerciales de plaguicidas organoclorados más conocidos.	
Nombre genérico	Nombre Comercial
DDT	Clorofenotano
Endrín	Endrín
Aldrín	Aldríte, Drinox
Dieldrín	Dieldríte
Lindano	Gamma BHC
Heptacloro	Clorahep
Hexaclorociclohexano	BHC
Endosulfan	Thiodan
Mirex	Declorano
Toxafeno	Toxakil, Strobane-T

**Figura 7.** Nombres genéricos y comerciales de plaguicidas organoclorados más conocidos.  
(Henao & Nieto, 2013)

### 2.9.3.2 (DDT).

(Betancur, 2013) Ha sido usado desde la segunda guerra mundial. Es un compuesto químico sintético utilizado para controlar enfermedades en humanos y animales domésticos transmitidas por insectos, además de ser aplicado en el control de plagas para todo tipo de cultivos, pero que ha sido suspendido en la mayoría de los países debido a su persistencia en el ambiente, susceptibilidad de biomagnificación y potencial toxicidad a animales superiores.

Su aplicación redujo drásticamente la malaria en el mundo, al poder actuar sobre el mosquito causante de la transmisión de la enfermedad, ha salvado millones de vidas humanas. El DDT también permitió mejorar sensiblemente el rendimiento de las cosechas destinadas a la alimentación humana y significó un importante elemento en la denominada Revolución Verde de la agricultura. (Abraham, y otros, 2015)



Se ha demostrado el impacto adverso del DDT sobre la vida silvestre al poseer propiedades de persistencia, bioacumulación y movilización de largo alcance en el ambiente. Si se consideran estos efectos negativos, se hace necesario el desarrollo de métodos efectivos de remediación, donde las tecnologías biológicas ofrecen como ventaja la destrucción parcial o completa de los contaminantes.

### **2.9.3.3 Toxicocinética y toxicodinámica de compuestos organoclorados.**

#### 2.9.3.3.1 Vías de absorción.

(Henaó & Nieto, 2013) Los plaguicidas organoclorados pueden ingresar al organismo a través de los sistemas digestivo y respiratorio, o por la piel. En este último caso, el grado de penetración depende también del tipo de compuesto organoclorado de que se trate. Por ejemplo, el DDT es poco absorbido por la piel, mientras que los drines (aldrín, endrín, etc.) lo hacen con mayor rapidez, y en mayor proporción. Por otro lado, cuando estas sustancias se encuentran disueltas en grasas animales o vegetales aumenta, aún más, su absorción.

#### 2.9.3.3.2 Mecanismos de acción sobre el organismo.

La principal acción tóxica de los organoclorados la ejercen sobre el sistema nervioso, interfiriendo con el flujo de iones a través de las membranas de las células nerviosas, aumentando de esta forma la irritabilidad de las neuronas, siendo además inductores enzimáticos. El DDT y análogos prolongan el tiempo de apertura de los canales de Na<sup>+</sup>. El lindano, el toxafeno y los ciclodienos inhiben el flujo de cloro regulado por el ácido gamma amino butírico (GABA). Los organoclorados, a diferencia de los organofosforados y los carbamatos, no inhiben las colinesterasas.

#### 2.9.3.3.3 Biotransformación y excreción.

Puesto que, como ya dijimos, los organoclorados son sustancias poco solubles en agua, cuando ocurre una exposición súbita la sangre se satura rápidamente, debido al proceso de filtrado que efectúa el glomérulo, para luego ser reabsorbido por el túbulo renal (debido a su membrana liposoluble). Como consecuencia de esta saturación, los organoclorados se acumulan en los tejidos grasos, pudiendo causar intoxicación crónica.

En el caso de intoxicación de una mujer embarazada, el feto se ve también afectado, ya que los organoclorados atraviesan la barrera placentaria. El recién nacido se vería aún más afectado por la lactancia materna, porque ésta es una importante vía de excreción.

El metabolismo de los organoclorados se lleva a cabo lentamente en el hígado por acción de las enzimas microsomales, a través de mecanismos de oxidación (epoxidación) y conjugación, transformando así a las moléculas liposolubles en hidrosolubles que sí pueden ser eliminadas por el riñón.

De manera especial, el DDT, el DDE, los ciclodienos, el mirex y el kepone son capaces de inducir dichas enzimas, que también metabolizan algunas drogas. Cuando a la persona se le ha administrado, por cualquier causa, alguna droga que se metabolice por esta vía y se intoxique por organoclorados, el metabolismo de estos últimos será aún más lento.

Estos plaguicidas se eliminan lentamente, a través de la bilis, heces, orina y leche materna.

#### 2.9.3.3.4 Pruebas de laboratorio.

A continuación describiremos las pruebas de laboratorio más sensibles para identificar los diferentes tipos de organoclorados, las muestras biológicas y los valores de referencia:

La cromatografía de gases se utiliza para la determinación de plaguicidas organoclorados o sus metabolitos en muestras de sangre, orina, contenido gástrico, materias fecales u otras muestras biológicas. Con este método es posible determinar este tipo de plaguicidas, aun a concentraciones muy por debajo de las asociadas con la intoxicación aguda. Por lo tanto, el solo reporte positivo del laboratorio no constituye prueba inequívoca de intoxicación. Además debe recordarse que, dado el alto grado de persistencia de estos plaguicidas en el ambiente, es bastante probable que la gran mayoría de la población (si no toda), tenga niveles de diversa magnitud en su organismo.

Las intoxicaciones con DDT, DDE, DDD, dieldrin, endrin, hexaclorociclohexano y lindano se pueden detectar como tales en la sangre. Debido a la rápida epoxidación del aldrín en dieldrín en el hígado, se podría determinar este último en los casos de intoxicación por aldrín.

El DDE (metabolito del DDT), el dieldrín, el anti-12- hidroxiendrín (metabolito del endrín) pueden medirse en la orina. El valor máximo permisible tentativo para el anti-12- hidroxiendrín es 0.13 mg/g de creatinina.

En los casos de intoxicación por DDT son útiles las pruebas de función hepática (alanino amino transferasa ALAT y aspartato amino transferasa ASAT).

Organización Mundial de la Salud (OMS, 2014) estableció un “nivel máximo en agua potable de DDT y metabolitos de 2 ug/l. En Estados Unidos la Oficina de Seguridad y Salud Ocupacional estableció un límite máximo de DDT en aire de 1 mg/m”

#### **2.9.3.4 DDT y su impacto en el ambiente.**

(Betancur, 2013) Insecticidas persistentes como el DDT tienen la habilidad de incorporarse en los ciclos biológicos y concentrarse en organismos macroscópicos a lo largo de la cadena alimenticia, e incluso se ha demostrado su capacidad de almacenarse en células muertas de microorganismos y presentar resistencia a la lixiviación en el suelo.

El tiempo de vida medio biológico del DDT es de 8 años aproximadamente, es decir un animal toma este tiempo en metabolizar la mitad de la cantidad de DDT que asimila, si la ingestión continua en una velocidad estable el DDT se acumula en el animal con el tiempo. Compuestos químicos altamente lipofílicos, como el DDT, se almacenan fácilmente en las células del tejido graso del cuerpo humano y en menor medida son metabolizados y excretados. Cuando se agotan las acumulaciones de tejido graso en los organismos, los compuestos químicos almacenados se redistribuyen en el organismo.

A causa de la persistencia del DDT, la agencia de protección ambiental de Estados Unidos (EPA) ha clasificado el DDT y sus metabolitos, DDD (1,1-dicloro-2,2-bis (4-clorofenil) etano) y DDE (1,1-dicloro-2,2-bis (4-clorofenil) etileno) como contaminantes prioritarios y muy peligrosos.

### **2.10 PLAGUICIDAS PROHIBIDOS EN EL ECUADOR.**

(Echeverría, 2013) Tan profunda ha sido la preocupación por el uso de DDT, por las evidencias de varias investigaciones científicas, que los gobiernos han tomado medidas en contra de su uso. Al menos 26 países hasta el año 1991 lo habían prohibido completamente y en otros 12 países su uso ya estaba severamente restringido para programas especiales y en la actualidad son 140 los países que forman parte del convenio de Rotterdam como compromiso al procedimiento del uso de plaguicidas y productos químicos (Rotterdam Convention).

La incorporación y reafirmación de principios ambientales en la Constitución del 2008 es un aspecto importante y trascendental para el derecho del buen vivir y desarrollo sustentable en el país. Así lo confirman los siguientes artículos y leyes de la constitución:

- Art. 13 del capítulo segundo de Derechos del buen vivir, que asegura el derecho al acceso de alimentos sanos que estén en correspondencia a las diversas tradiciones culturales.
- Art. 15 del mismo capítulo segundo, donde se afirma que el Estado proveerá tecnologías ambientalmente limpias no contaminantes y de bajo impacto ambiental. A la vez, se prohíbe el uso de contaminantes orgánicos persistentes altamente tóxicos que atenten contra la salud humana, la soberanía alimentaria y los ecosistemas del territorio nacional (Asamblea Constituyente).
- Ley de Gestión Ambiental - Ley N°37 –R.O 245 -1999: En el instrumento de gestión ambiental del art 21 se determina la evaluación y el control de compuestos orgánicos persistentes, como el DDT, para lo cual se llevaran a cabo sistemas de manejo ambiental que incluirán estudios de línea base, sistemas de monitoreo, y planes de contingencia, prevención y manejo (Ministerio del Ambiente).
- Ley de Prevención y Control de la Contaminación Ambiental - Codificación 20, R. O 418 – 2004: Los Ministerios de Agricultura y Ganadería y del Ambiente, cada uno en el área de su competencia y siguiendo el principio de prevención determinado en el art. 12, limitarán, regularán, o prohibirán el empleo de sustancias tóxicas, plaguicidas tales como el DDT, cuyo uso pueda causar contaminación.
- Acuerdo Ministerial No. 0242 del 18 de julio de 1985: El Ministerio de Agricultura considerando el Art. 30 del decreto 2331 de 1983, del reglamento para la fabricación, formulación, importación, comercialización y empleo de plaguicidas y productos afines de uso agrícola, dispone que el registro de un pesticida podrá ser suspendido o cancelado cuando se comprobare que ha sido prohibida su fabricación o uso en cualquier país, por nocivo para la salud o por producir contaminación ambiental. En base de esto se procede a cancelar 9 plaguicidas COPs, que se incluyen al DDT, mencionado en el art. 1 del Acuerdo Ministerial 242 (Ministerio del Ambiente).
- Texto Unificado de legislación Ambiental Secundaria – TULAS: De acuerdo a Decreto presidencial No. 3516 se publica el libro VI De la calidad, Texto Unificado de Legislación Secundaria del Ministerio de Ambiente, en el cual consta la gestión de COPs, que incluye al DDT, en el cual se establece la normativa Art. 228 para la gestión de productos químicos peligrosos en todas sus fases formulación, fabricación, importación, comercialización y empleo de plaguicidas y productos afines de uso

agrícola. Se determinan los parámetros máximos permisibles de organoclorados en aguas y suelos de acuerdo a su uso.

(AGROCALIDAD, 2014) En el Ecuador fue publicado el listado de plaguicidas prohibidos en el Registro Oficial No 64 (Anexo C), por ser nocivos para la salud y haber sido prohibida su fabricación, comercialización o uso en varios países.

Plaguicidas organoclorados prohibidos: Aldrin, Dieldrin, Endrín, BHC, Clordano, DDT y metabolitos (DDD y DDE), Lindano, entre otros.

## **2.11 EMPRESA MUNICIPAL DE AGUA POTABLE Y ALCANTARILLADO DE IBARRA**

En 1969 la Empresa Municipal de Agua Potable y Alcantarillado de Ibarra, fue creada con el objetivo de dotar de servicios básicos de infraestructura sanitaria al cantón Ibarra. Agua potable y alcantarillado fueron la misión inicial, actualmente tiene como finalidad la captación, tratamiento, distribución, producción y venta de agua potable, cuenta con un laboratorio de Control de Calidad de Agua que se encarga de realizar todos los análisis necesarios de aguas potables, crudas y residuales, en donde se realizan análisis Físicos, Químicos, Microbiológicos en aguas tratadas, crudas y residuales, además realiza análisis DBO (demanda biológica de oxígeno) y DQO (demanda química de oxígeno) y metales en el agua. (EMAPA-I, 2014)

El laboratorio cuenta con instalaciones y equipos con tecnología moderna que certifica el cumplimiento de normas nacionales e internacionales con las que se garantiza el buen vivir. Al momento el laboratorio se encuentra en proceso de acreditación ISO-17025 con la incorporación de análisis de plaguicidas en el agua potable.

“Los laboratorios que realizan análisis de plaguicidas en agua, mediante la técnica de cromatografía de gases son muy pocos y su importancia en la salud humana es vital ya que los efectos pueden llevar a graves enfermedades e incluso la muerte.” (Jarrín, 2011)

## **2.12 IMPLEMENTACIÓN DE MÉTODOS DE CONTROL DE CALIDAD EN EL AGUA.**

(De Romedi, Nassetta, & Córpora, 2011) Afirma que “Para lograr el aseguramiento de la calidad de los resultados emitidos por el laboratorio, es necesario implementar los métodos

que se utilizan, de manera tal que los destinatarios se sientan satisfechos y confiados por los resultados proporcionados”.

### **2.12.1 MÉTODO DE ANÁLISIS.**

Un método de análisis se considera como una guía de operaciones a llevar a cabo, mientras que un procedimiento analítico constituye más bien “el modo” de hacerlo.

#### **2.12.1.1 Método normalizado.**

Son aquellos publicados por organizaciones internacionales, regionales o nacionales; por organizaciones técnicas respetables; referencias legales y que se ejecutan tal como se describen en la norma.

Se prefiere usar los métodos estándar, sin embargo es necesaria la verificación de la capacidad analítica dentro de los laboratorios en los cuales es usado. Aquellos métodos especificados por fabricantes de equipos de análisis también son considerados como métodos estándar. (Toasa, 2012)

## **2.13 TÉCNICAS ANALÍTICAS.**

(CONSOLIDER, 2010) Los procedimientos más utilizados para llevar a cabo la determinación de compuestos en matrices ambientales, aplican métodos de pre-concentración de la muestra, tales como extracción en fase sólida (SPE) o extracción líquido-líquido (LLE), seguidos de la separación y determinación de los analitos mediante cromatografía de líquidos (LC) o cromatografía de gases (GC), en combinación con técnicas de espectrometría de masas (LC-MS o GC-MS). Para la determinación de analitos no polares, volátiles y térmicamente estables, la metodología analítica más utilizada ha sido la cromatografía de gases.

## **2.14 ANÁLISIS DE PLAGUICIDAS.**

(Jarrín, 2011) Anterior a la determinación de residuos de plaguicidas hay que llevar a cabo una preparación de muestras, que normalmente va a incluir una etapa de extracción y purificación con el fin de obtener un extracto final compatible con la cuantificación.

Previo al análisis de plaguicidas en agua se requiere un proceso de extracción y concentración, ya que estos van a estar en una proporción traza en relación al resto de componentes.

## **2.15 MÉTODOS DE EXTRACCIÓN.**

(Mosquera, 2012) Se entiende por extracción como un proceso donde uno o varios compuestos de interés denominados analitos, son retirados de una ubicación principal llamada matriz la cual puede ser sólida, líquida o gaseosa, por medio de un solvente (como es el caso de los sólidos y los líquidos) o un adsorbente (para los gases).

Dependiendo de la matriz existen diversas metodologías de extracción entre las cuales se tienen:

- Para matrices acuosas la extracción líquido-líquido con embudo de separación, extracción líquido-líquido continua y la extracción en fase sólida.
- Para matrices sólidas existe el método de extracción soxleht, extracción de fluidos presurizados, extracción por microondas, extracción asistida por ultrasonido y extracción con fluidos supercríticos.
- Para la extracción de compuestos orgánicos del suelo, en este caso plaguicidas se realizó una extracción sólido-líquido por medio un equipo de ultrasonido y un sistema soxleht.

### **2.15.1 EXTRACCIÓN ASISTIDA POR ULTRASONIDO.**

(Torres & Flores, 2011) La primera aparición de ultrasonido se dio en 1917 y desde entonces se ha desarrollado y expandido a un gran número de aplicaciones, un ejemplo de ello es la extracción asistida por ultrasonido utiliza sonidos de alta frecuencia, con el fin de desprender el compuesto buscado del material vegetal. Las partículas sólidas y líquidas vibran y se aceleran ante la acción ultrasónica, como resultado el soluto pasa rápidamente de la fase sólida al solvente.

### **2.15.2 EXTRACCIÓN SOXHLET.**

Consiste básicamente en el lavado sucesivo de una mezcla sólida con un determinado solvente, que va extrayendo de la mezcla los componentes más solubles en él, mediante el lavado sucesivo de una mezcla, se puede extraer de ella componentes cuya solubilidad en el solvente extractante es muy baja, debido al efecto acumulado de las múltiples extracciones. Por tal motivo se hace necesario limpiar las impurezas que acompañan al analito de interés y a su vez concentrarlo utilizando técnicas como la extracción en fase sólida.

### **2.15.3 EXTRACCIÓN EN FASE SÓLIDA (SPE) O CLEANUP.**

Es una de varias técnicas disponibles para un analista en la cual se genera una unión entre la recolección de las muestras y su correspondiente análisis.

El uso de la extracción en fase sólida data de la época de mediados de los años 70 cuando las columnas de relleno con partículas de resinas eran utilizadas para concentrar contaminantes orgánicos de muestras acuosas, solo hasta finales de los años ochenta y principios de los 90 se comienza un desarrollo en la técnica de extracción en fase sólida y en su uso analítico dando a conocer la gran expansión de esta hasta ahora conocida. La SPE consta de 3 componentes, un reservorio, 2 discos filtros y una cama adsorbente.

#### **2.15.3.1 Adsorbentes.**

La sílica es un polímero inorgánico de fórmula molecular  $(\text{SiO}_2)_x$  es uno de los adsorbentes más usado en la (SPE) debido a su precio y su alta disponibilidad. Al final de las cadenas y en toda su superficie polimérica encontramos grupos hidroxilos los cuales son los encargados de darle el carácter típico a las sílica.

En la actualidad encontramos a la sílica enlazada con otros compuestos para mejorar su polaridad ya sea aumentando o disminuyéndola, produciendo una ostensible mejora al interactuar con los compuestos de interés.

Entre otros tipos de adsorbentes encontramos los óxidos de aluminio, magnesio, titanio que cumplen una función muy similar a la de los grupos hidroxilos de la sílica. Por último se tienen los adsorbentes basados en polímeros, los cuales ayudan en ocasiones con los problemas que tienen los óxidos y la sílica siendo este el de su alta actividad a la hora de interactuar con los componentes.

#### **2.15.3.2 Tipos de (SPE).**

La extracción en fase sólida se divide principalmente en cuatro tipos.

- **SPE en fase normal con adsorbentes polares:** es la más antigua aunque todavía es muy utilizada, se basa en la interacción entre puentes de hidrógeno provenientes de los grupos hidroxilos de la sílica o la alúmina, por ende es adecuada para compuestos ligera y mediana polaridad.



- SPE en fase normal con adsorbentes polares enlazados: esta es adecuada para analitos fuertemente polares, ya que se presentan interacciones dipolo-dipolo con el analito, siempre y cuando grupo R de la sílica contenga grupos amino, ciano ó dioles.
- SPE en fase reversa: este hace referencia a que el adsorbente es menos polar que la fase móvil, es decir, ocurre una interacción entre los enlaces del carbono-hidrogeno de los analitos y los de carbono-hidrógenos del adsorbente. Es ideal para compuestos no polares.
- SPE por intercambio catiónico u aniónico: se utiliza para la extracción de analitos que pueden ser convertidos a su forma iónica a través de un ajuste en el pH.

#### **2.15.3.3 Cartuchos para la extracción en fase solida (SPE).**

(Gary & Christian, 2010) El solvente para la extracción de fase solida (SPE) se encuentra pre empacado en tubos de polipropileno para jeringa, normalmente de 500 mg. de empaque de jeringas cuyos barriles son de 3 o 5 ml. Se han vuelto más populares las jeringas más pequeñas de 1 ml, empacadas con 100 mg. por el menor tamaño de la muestra, la menor cantidad de disolvente necesario y los menores tiempos de limpieza; incluso hay empaques menores. 10 mg. Naturalmente estos empaques pequeños tienen menor capacidad. Se podrán necesitar empaques mayores para grandes volúmenes de muestra del medio ambiente, como las de agua contaminada que tienen grandes cantidades de contaminación por eliminar.

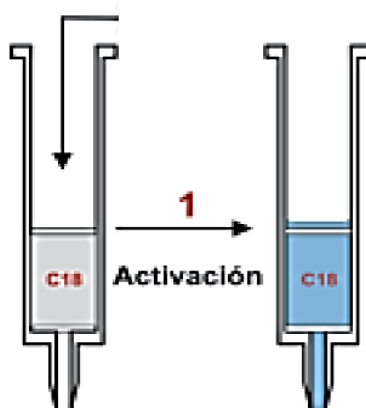
Los cartuchos (SPE) se usan para aislar y concentrar drogas obtenidas de muestra biológica y se suelen procesar en lotes de 12 y 24 usando un sistema de vacío múltiple. Se trata de un sistema automático de manejo de líquidos para mejorar la eficiencia.



**Gráfico 1.** Sistema para Extracción en Fase Sólida.  
(Aguirre, 2015)

#### 2.15.3.4 Acondicionamiento.

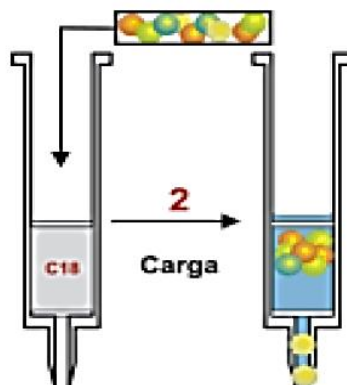
- Al acondicionar el solvente antes de la aplicación de la muestra se asegura una retención reproducible de compuesto de interés (es aislado).



**Figura 8.** Acondicionamiento.  
(Paez & Montoya , 2012)

#### 2.15.3.5 Retención.

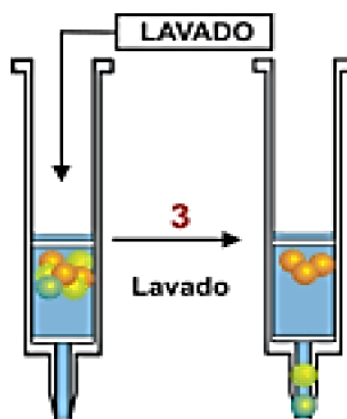
- “Aislado” absorbido.
- Componentes no deseados de la matriz.
- Otros componentes de la matriz indeseables.



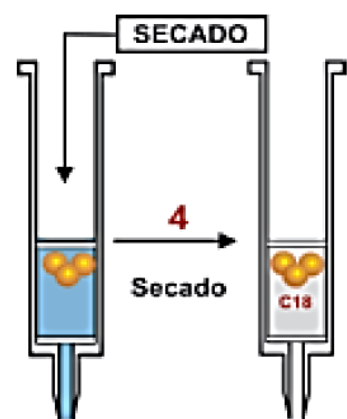
**Figura 9.** Retención.  
(Paez & Montoya , 2012)

### 2.15.3.6 Lavado y secado.

- Lavado para eliminar los componentes no deseados.



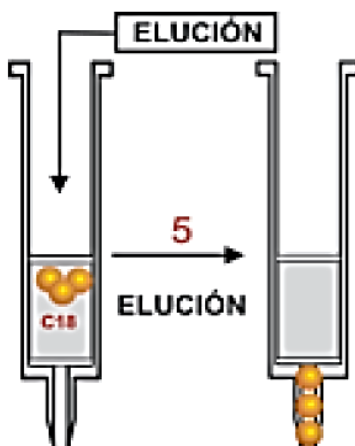
**Figura 10.** Lavado.  
(Paez & Montoya , 2012)



**Figura 11. Secado.**  
(Paez & Montoya , 2012)

### 2.15.3.7 Elución.

- Los componentes no deseados se retienen
- El “aislado” ya purificado y concentrado, queda listo para su análisis.



**Figura 12. Elución.**  
(Paez & Montoya , 2012)

Después del acondicionamiento, el analito y otros componentes de la muestra son absorbidos en el lecho solvente de extracción. Con una etapa de lavado se elimina alguno de los componentes no deseados, en tanto que la elusión remueve el analito que se desea, quizás dejando la fase sólida o de la solubilidad disolvente de la elusión. Este procedimiento es el que sigue la Agencia de Protección Ambiental estadounidense (EPA) para determinar compuestos orgánicos en el agua potable.

### 2.15.4 EXTRACCIÓN LÍQUIDO-LÍQUIDO (ELL).

(Angurell et al., 2012) La extracción líquido-líquido es un método muy útil para separar componentes de una mezcla. El éxito de este método depende de la diferencia de solubilidad del compuesto a extraer en dos disolventes diferentes. Cuando se agita un compuesto con dos disolventes inmiscibles, el compuesto se distribuye entre los dos disolventes. A una temperatura determinada, la relación de concentraciones del compuesto en cada disolvente es siempre constante, y esta constante es lo que se denomina coeficiente de distribución o de reparto ( $K = \text{concentración en disolvente 2} / \text{concentración en disolvente 1}$ ).

(Ovalle, 2012) Es frecuente obtener mezclas de reacción en disolución o suspensión acuosa (bien porque la reacción se haya llevado a cabo en medio acuoso o bien porque durante el final de reacción se haya añadido una disolución acuosa sobre la mezcla de reacción inicial). En estas situaciones, la extracción del producto de reacción deseado a partir de esta mezcla acuosa se puede conseguir añadiendo un disolvente orgánico adecuado, más o menos denso que el agua, que sea inmisible con el agua y capaz de solubilizar la máxima cantidad de producto a extraer pero no las impurezas que lo acompañan en la mezcla de reacción. Después de agitar la mezcla de las dos fases para aumentar la superficie de contacto entre ellas y permitir un equilibrio más rápido del producto a extraer entre las dos fases, se producirá una transferencia del producto deseado desde la fase acuosa inicial hacia la fase orgánica, en una cantidad tanto mayor cuanto mayor sea su coeficiente de reparto entre el disolvente orgánico de extracción elegido y el agua. Unos minutos después de la agitación, las dos fases se separan de nuevo, espontáneamente por decantación, debido a la diferencia de densidades entre ellas, con lo que la fase orgánica que contiene el producto deseado se podrá separar mediante una simple decantación de la fase acuosa conteniendo impurezas. La posición relativa de ambas fases depende de la relación de densidades. Dado que después de esta extracción, la fase acuosa frecuentemente aún contiene cierta cantidad del producto deseado, se suele repetir el proceso de extracción un par de veces más con disolvente orgánico puro.

Una vez finalizada la operación de extracción, se tiene que recuperar el producto extraído a partir de las fases orgánicas reunidas. Para ello, se tiene que secar la fase orgánica resultante con un agente desecante, filtrar la suspensión resultante y finalmente eliminar el disolvente orgánico de la disolución seca conteniendo el producto extraído por destilación o evaporación.

Aunque normalmente la extracción se utiliza para separar el producto deseado selectivamente de una mezcla, a veces lo que se pretende con la extracción es eliminar impurezas no deseadas de una disolución.

#### **2.15.4.1 Características del disolvente de extracción.**

La extracción selectiva de un componente de una mezcla disuelta en un determinado disolvente se puede conseguir añadiendo otro disolvente que cumpla las siguientes condiciones.

- Que no sea miscible con el otro disolvente.
- Que el componente deseado sea mucho más soluble en el disolvente de extracción que en el disolvente original.
- Que el resto de componentes no sean solubles en el disolvente de extracción.
- Que sea suficientemente volátil, de manera que se pueda eliminar fácilmente del producto extraído mediante destilación o evaporación.
- Que no sea tóxico ni inflamable, aunque, desgraciadamente hay pocos disolventes que cumplan los dos criterios: hay disolventes relativamente no tóxicos pero inflamables como el hexano, otros no son inflamables pero sí tóxicos como el diclorometano o el cloroformo, y otros son tóxicos e inflamables como el benceno.

#### 2.15.4.2 Disolventes inmiscibles con el agua, disolventes utilizados con mayor frecuencia.

- Cuanto más polar es el disolvente orgánico, más miscible (soluble) es con el agua.
- Por ejemplo, disolventes polares como el metanol, el etanol o la acetona son miscibles con el agua, y por lo tanto, no son adecuados para extracciones líquido-líquido.
- Los disolventes orgánicos con baja polaridad como el diclorometano, el éter dietílico, el acetato de etilo, el hexano o el tolueno son los que se suelen utilizar como disolventes orgánicos de extracción.

#### Disolventes de Extracción

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

**Figura 13.** Disolventes de extracción.  
(Angurell et al., 2012)

#### **2.15.4.3 Repetición en el proceso de extracción.**

(Angurell et al., 2012) Después de una primera extracción se produce un reparto del compuesto a extraer entre el disolvente de extracción y la fase inicial. Como la fase inicial suele contener aún una cantidad apreciable del compuesto a extraer, variable en función de su coeficiente de reparto entre los dos disolventes implicados, es recomendable repetir el proceso de extracción con nuevas cantidades de disolvente de extracción, para optimizar su separación. Es más eficiente una extracción con  $n$  porciones de un volumen  $V/n$  de disolvente de extracción que una sola extracción con un volumen  $V$  de disolvente. Por lo tanto, cuanto mayor sea el número de extracciones con volúmenes pequeños de disolvente de extracción, mayor será la cantidad de producto extraído, o dicho de otra forma, “mejor muchos de poco que pocos de mucho”.

### **2.16 CROMATOGRAFÍA.**

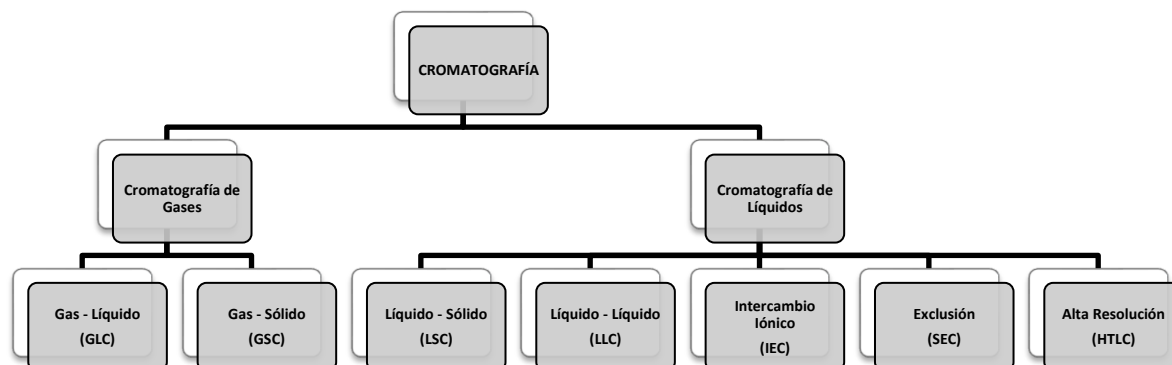
(Sierra, Pérez, Gómez, & Morante, 2010) han propuesto una definición de cromatografía “cromatografía es un método físico de separación, en el que los componentes a separar se distribuyen en dos fases, una estacionaria (fase estacionaria) y otra que se mueve (fase móvil) en una dirección determinada a través de la primera.

#### **2.16.1 TIPOS DE CROMATOGRAFÍA.**

Existen diversos tipos de cromatografía y para su clasificación se puede atender a diversos criterios. Unos de éstos es según la forma en que las fases móvil y estacionaria, se ponen en contacto, de modo que podemos distinguir dos tipos de cromatografía, plana, cuando la fase estacionaria se deposita sobre una superficie abierta (papel, lámina de plástico, vidrio o metal) y en columna, cuando la fase estacionaria se deposita en el interior de un tubo estrecho o columna (vidrio, acero, sílice fundida, entre otros.).

En función de las fases existen distintos tipos de cromatografía. En general, encontramos tres tipos: cromatografía de gases (GC), cromatografía de fluidos supercríticos (SFC) y cromatografía de líquidos (LC), en función de que la naturaleza de la fase móvil sea gas, fluido supercrítico o líquido, respectivamente. A su vez, en función del tipo de fase estacionaria y de las interacciones que se establecen entre los componentes a separar y ambas fases encontramos una variedad de modalidades que incluyen cromatografía líquido-líquido (LLC), cromatografía en capa fina (TLC), cromatografía líquido-sólido

(LSC), cromatografía de intercambio iónico (IEC), cromatografía de exclusión por tamaños (SEC), cromatografía de afinidad (CA), cromatografía de fases enlazadas (BPC) y cromatografía de capa fina de alta resolución (HTLC).



**Figura 14.** Tipos de Cromatografía.  
(Aguirre, 2015)

Además, la cromatografía puede clasificarse también de acuerdo al modo en que se desarrolla el proceso cromatográfico. Según este criterio, la cromatografía puede ser en discontinuo o en continuo, dependiendo de si la fase móvil pasa de manera continua o no a través de la fase estacionaria durante el proceso de separación. La cromatografía en discontinuo, por lo general, se utiliza para purificar y pre concentrar muestras (un ejemplo es la extracción en fase sólida, (SPE)). Por su parte la cromatografía en continuo se utiliza para la separación y cuantificación de analitos. Esta última, a su vez puede ser: frontal, de desplazamiento o de elución, siendo esta última la más común y la que se utilizara a lo largo del capítulo para explicar la teoría cromatográfica.

## 2.16.2 CROMATOGRAFÍA DE GASES.

### 2.16.2.1 Fundamentos y principios básicos.

(Abburrá & Sbarato, 2009) La idea de esta técnica se basa en la volatilización de la muestra y su posterior inyección de la cabeza de la columna de cromatografía. Para la elución de la muestra se usa un gas inerte como fase móvil, de esta manera la fase móvil no interacciona con las moléculas de analito, simplemente transporta el analito a través de la columna.

Existen dos tipos de cromatografía de gases (GS):

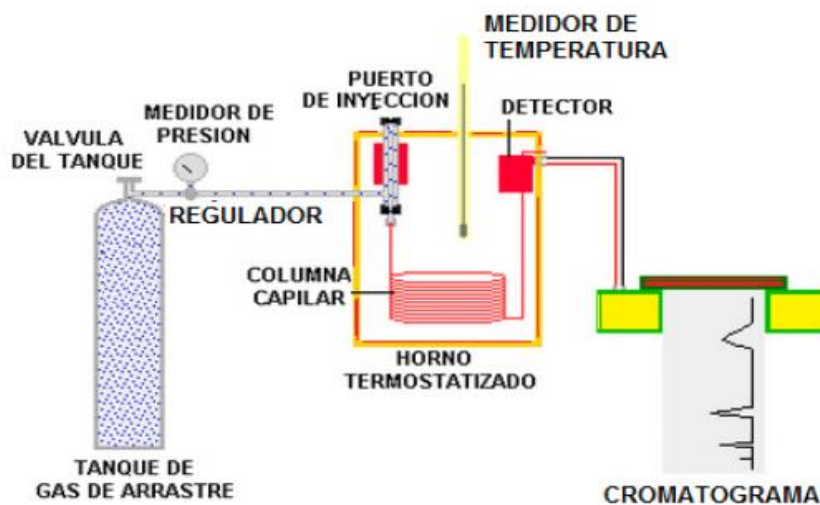


- **Cromatografía Gas-Sólidos (GSC):** La fase estacionaria es sólida y la retención de los analitos se producen mediante absorción. En (GSC) la fase estacionaria es sólida y la retención de los analitos en ella se produce mediante el proceso de absorción. Precisamente este proceso de absorción, que no es lineal, es el que ha provocado que este tipo de cromatografía tenga ampliación limitada, ya que la retención de los analitos sobre la superficie es semipermanente y se obtienen picos de elución con colas. Su única aplicación es la separación de especies gaseosas de bajo peso molecular.
- **Cromatografía Gas-Líquido (GLC):** La fase estacionaria son moléculas de líquido inmovilizadas sobre la superficie de gas inerte, esta se la usa más ampliamente. En (GLC) es un sistema de inyección de muestra, columna (generalmente dentro de un horno), y detector.



**Gráfico 2.** Cromatógrafo de Gases con Autosampler y Detector de Captura de Electrones (ECD).  
(Aguirre, 2015)

### 2.16.2.2 Instrumentación de un cromatógrafo de gases.



**Figura 15.** Diagrama de las partes básicas de un cromatógrafo de gases.  
(Paez & Montoya , 2012)

#### 2.16.2.2.1 Gas portador.

Debe ser un gas inerte para evitar que reaccione con el analito o con la columna. Los gases de uso más común son el helio, nitrógeno, hidrogeno o argón. Se controla su entrada en el sistema mediante manómetros para garantizar un flujo constante y estable.



**Gráfico 3.** Gas Nitrógeno 99.999% puro.  
(Aguirre, 2015)

#### 2.16.2.2.2 Inyección en columnas capilares.

(Parrales, Reyes, & Pine, 2012) Es necesaria una reducción del volumen de la muestra cuando se trabaja con columnas capilares. Esto se logra mediante un inyector – divisor (inyección en Split), donde generalmente se inyecta una muestra de 1 ul pero sólo entra al capilar 0.01 ul; el resto es desechado. Esta técnica impide la sobrecarga de la columna, pero desperdicia una porción significativa de la muestra.

Cuando se realizan análisis en cantidades pequeñas de muestra con algunos componentes en concentraciones del orden de milésimas de parte por millón, se introduciría muy poco material en la columna si para estas muestras se utiliza el divisor. Para ellas se requiere de solvente o inyección sin división (inyector en splitless).

La muestra completa, incluyendo el disolvente, se inyecta en la columna tubular abierta, a través de un vaporizador instantáneo caliente. Se evita un coleo pronunciado del disolvente abriendo hacia la atmósfera el puerto de inyección después de algún tiempo (quizá unos 30 s.), cuando la mayor parte del disolvente, y esencialmente toda la muestra, entraron en la columna.

El tiempo apropiado antes de esa descarga es crítico; si es demasiado corto se produce la pérdida de los componentes de la muestra, mientras que si es demasiado largo se produce un pico del disolvente más grande del necesario, que puede sepultar algunos de los picos de interés.



**Gráfico 4.** Autosampler (Inyector).  
(Aguirre, 2015)

#### 2.16.2.2.3 Columnas.

(Abburrá & Sbarato, 2009) Existen dos tipos de columnas y sirven para la separación de compuestos de una muestra:

1. Columnas empaquetadas o de relleno: son tubos de vidrio, metal inerte o teflón de 2 o 3 metros de longitud y de 2 a 4 mm de diámetros interno el material de relleno del interior consiste en partículas esféricas para interaccionar el analito.
2. Tubulares abierta o capilares: (más eficaz y rápida) están formadas por un tubo de vidrio o sílice fundida de un diámetro comprendido entre 0.2 y 0.8 mm. En cuya pared interna se dispone la fase estacionaria. Según sea la forma en que se dispone la fase estacionaria sobre la pared del tubo, se distingue básicamente dos tipos de columnas:
  - WCOT (Wall Coated Open Tubular), son tubos capilares donde la pared interna está recubierta con una fina capa de fase estacionaria. Son más eficaces.
  - PLOT (Porous Layer Open Tubular), En estas columnas la pared interna del tubo está recubierta por una capa de un soporte adsorbente; si a su vez el soporte está

impregnado con una fase estacionaria líquida, las columnas son denominadas SCOT (Support Coated Open Tubular).

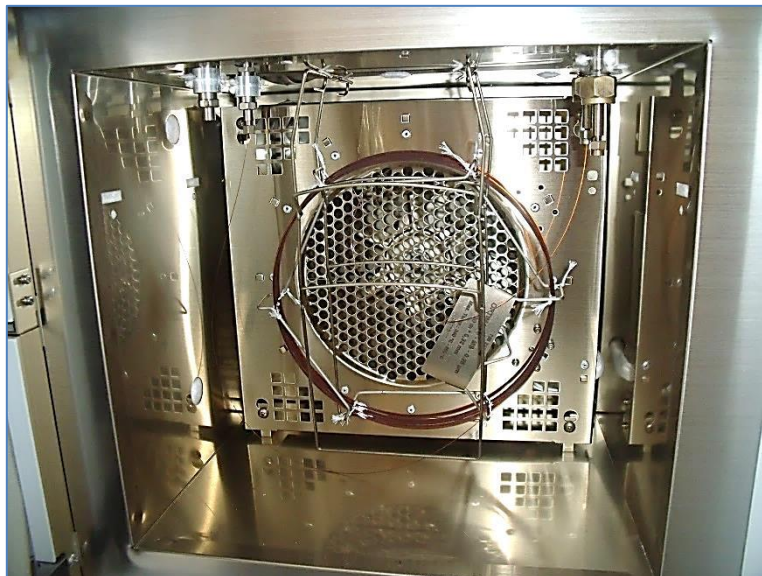


**Gráfico 5.** Columna Capilar para Plaguicidas Organoclorados.  
(Aguirre, 2015)

La longitud de las columnas es de 2 a 50 metros, de acero inoxidable, vidrio, sílice o teflón. Las columnas se enrollan de forma helicoidal para encajar en el horno.

#### 2.16.2.2.4 Sistemas de control de temperaturas (Horno).

La temperatura influye directamente sobre la separación de los analitos, se necesita una precisión de décimas de grado. La temperatura depende del punto de ebullición de analito; así pues se ajusta la temperatura un poco por encima del punto de ebullición. Si son varios analitos se deben ajustar a la rampa de temperatura, que consiste en el aumento de temperatura, que consiste en aumentar la temperatura en forma gradual o por etapas hasta separar los analitos. El problema de subir demasiado la temperatura es que aumenta la velocidad de elución y también aumenta la descomposición del analito.



**Gráfico 6.** Horno con Columna Capilar.  
(Aguirre, 2015)

#### 2.16.2.2.5 Detectores.

Un detector es un dispositivo para revelar la presencia de las sustancias eluidas a la salida de la columna cromatográfica a continuación se presentan algunos:

3. **Detector de ionización de llama:** es un quemador de hidrogeno/oxigeno donde se mezclan el eluyente con el hidrogeno. En esta cámara se produce una chispa para causar ignición, los compuestos orgánicos al quemarse se pirolizan y se producen iones y electrones, aprovechando que se convierten en conductores se induce una corriente eléctrica, para detectar iones desprendidos. Es un detector de masa, puesto el número aproximado de iones desprendidos es igual al número de carbonos transformados.
  - **Detector de conductividad térmica:** se basa en el calentamiento de una resistencia mediante el uso de una corriente eléctrica. Esta resistencia tiene una temperatura que depende del gas circulante. La resistencia de un hilo de tungsteno, platino u oro.
  - **Detector termoiónico:** Se usan para compuestos fosforados y nitrogenados, su funcionamiento es parecido al detector de ionización de llama, el eluyente se mezcla con hidrogeno y se quema. El gas separa alrededor de una esfera de rubidio calentado a 600 °C y sometida a 180 V, creando un plasma en el cual se forman gran cantidad de iones que producen una cantidad medible, la intensidad es proporcional al número de iones formados y así determinar la cantidad del analito.

- Detector de captura de electrones: se basa en la emisión de partículas por parte de átomos como el  $^{63}\text{Ni}$  o tritio, el electrón emitido ioniza el gas portador y emite una ráfaga de electrones, esta ráfaga es sensible a una corriente eléctrica que podemos medir. En el caso de especies orgánicas los electrones son absorbidos, disminuyendo la intensidad de la corriente.
- Detector de emisión atómica: el gas se introduce en un plasma de helio inducido por microondas, la alta temperatura ioniza toda la muestra y se miden los espectros de emisión mediante un espectrofotómetro acoplado al sistema.

#### 2.16.2.2.6 Fases estacionarias.

Se encuentran dentro de una columna cromatográfica y es en donde están retenidos los componentes de la muestra, y a través de la cual fluye la fase móvil arrastrando a los mismos, son la mayoría líquidas y deben cumplir los siguientes requisitos:

- Características de reparto.
- Baja volatilidad.
- Baja reactividad.
- Estabilidad térmica.

Algunos de las fases estacionarias más comunes son:

- Polidimetilsiloxano: fase no polar de uso general para hidrocarburos, drogas y esteroides.
- Poli (fenilmetidifenil) siloxano: para ésteres metílicos de ácidos grasos, alcaloides, drogas y compuesto halogenados.
- Poli (fenilmetil) siloxano: drogas, esteroides, pesticidas y glicoles.
- Poli (trifluoropropildimetil) siloxano: para aromáticos clorados, nitroaromáticos, bencenos alquilsustituidos.
- Polietilenglicol: para compuestos como glicoles, alcoholes, éteres y aceites esenciales.
- Poli (dicianoalildimetil) para ácidos grasos poliinsaturados, ácidos libres y alcoholes

## 2.17 ANÁLISIS QUÍMICOS.

Se utilizan dos tipos de análisis según el parámetro que se desea determinar:

### **2.17.1 ANÁLISIS CUALITATIVO.**

El parámetro que puede usarse con fines cualitativos en cromatografía es el tiempo de retención. Este es característico de cada componente en cada sistema cromatográfico. Se trata sin embargo de una información pobre si se compara con otras técnicas de identificación (ejemplo: espectroscópicas). Únicamente con el tiempo de retención resulta difícil asegurar la presencia de un componente en una mezcla, aunque si se puede afirmar la ausencia. La identificación requiere siempre el uso de patrones en las mismas condiciones cromatográficas.

### **2.17.2 ANÁLISIS CUANTITATIVO.**

(Toasa, 2012) En química se conoce como análisis cuantitativo a la determinación de la abundancia absoluta o relativa (muchas veces expresada como concentración) de una, varias o todas las sustancias químicas presentes en una muestra.

El análisis se basa en la comparación del área o altura de pico del componente de interés con la de estándares de esta sustancia de concentración conocida, admitiendo que existe una relación lineal entre el área o altura de pico y la concentración en un determinado intervalo de concentraciones. En los análisis basados en altura de pico se requiere que la anchura de los picos no sufra modificación durante el tiempo necesario para obtener los cromatogramas de la muestra y los estándares para obtener resultados exactos.

El método más sencillo de la calibración consiste en el uso de patrones externos. Se obtienen los cromatogramas de disoluciones patrón de distinta concentración y se representa el área de pico en función de la concentración para construir la curva de calibrado. Esto debe corresponder a una recta que pasa por el origen. Por interpolación se obtiene la concentración de ese constituyente en la muestra.

### **2.17.3 ASEGURAMIENTO DE LA CALIDAD.**

#### **2.17.3.1 Estandarización.**

(Paez & Montoya , 2012) Estandarizar un método analítico consiste en verificar y documentar, que este conduzca con un alto grado de seguridad, a la obtención de resultados precisos y exactos dentro de las especificaciones y los atributos de calidad previamente establecidos.



La estandarización de un método analítico es un proceso riguroso que dependiendo de la técnica analítica a la que pertenezca el método, la matriz, el analito, la cantidad de parámetros de la estandarización, y de la logística empleada para su desarrollo, puede requerir de un tiempo más o menos considerable.

#### **2.17.3.2 Validación.**

La validación de un método según la farmacopea de Estados Unidos (USP) consiste en desarrollar el mismo, asegurándose que sea exacto, específico, reproducible y robusto, dentro de un rango establecido en el cual será determinado el analito, para esto se desarrollan los parámetros de desempeño establecidos.

#### **2.17.4 PARÁMETROS DE CALIDAD.**

Los parámetros de calidad son los criterios cuantitativos que se utilizan para decidir si un método es adecuado o no para resolver un determinado problema analítico. Son, por lo tanto los criterios que se utilizan en la validación de los métodos analíticos (para demostrar su validez en la resolución de un problema analítico). Los parámetros de calidad son la materialización o expresión numérica de características o indicadores de calidad de los métodos tales como la precisión, exactitud, sensibilidad, selectividad, linealidad, rango, límite de detección y límite de cuantificación.

##### **2.17.4.1 Exactitud.**

Expresa la cercanía de un resultado al valor verdadero. La validación de un método busca cuantificar la exactitud probable de los resultados evaluando tanto los efectos sistemáticos como los aleatorios sobre los resultados. Normalmente, la exactitud se estudia en dos componentes: la “veracidad” y la “precisión”.

###### **2.17.4.1.1 Veracidad.**

Es una expresión de que tan cercana se encuentra la media de un conjunto de resultados producidos por el método, respecto del valor real. La veracidad se constituye en una medida de error sistemático. Adicionalmente, una expresión cada vez más común de exactitud es la “incertidumbre de medición”.

###### **2.17.4.1.2 Precisión.**

Se define precisión como el grado de concordancia entre los resultados de test individuales cuando el procedimiento es aplicado repetidas veces para una muestra homogénea.

Generalmente, la precisión de un método se expresa en términos de desviación estándar (SD) o desviación estándar relativa en porcentaje % (coeficiente de variación, RSD).

Coeficientes de variación máximos ( $CV_{m\acute{a}x}$ ) de aceptación en dependencia del por ciento del analito en la muestra, según las teorías de Izaak Kolthoff (Padre de Química Analítica). Los valores del CV deben ser menores al 10%. (Castillo & González, 1995)

La precisión de un método puede estimarse de varias formas:

- Repetibilidad instrumental: Grado de concordancia entre los resultados obtenidos cuando una misma muestra es analizada repetidamente por el mismo analista, en el mismo equipo y en un corto periodo de tiempo.
- Repetibilidad del método: grado de concordancia entre los resultados obtenidos cuando el método es aplicado repetidamente por el mismo analista, en el mismo equipo y en un corto periodo de tiempo.
- Precisión intermedia: grado de concordancia entre los resultados obtenidos cuando se realizan pequeñas variaciones en el laboratorio como distintos días, diferentes analistas o equipos.
- Reproducibilidad: grado de concordancia entre resultados obtenidos cuando el método es aplicado en distintos laboratorios.

Los estudios de precisión de un método analítico deben realizarse con un número suficiente de alícuotas que permita un cálculo estadístico.

#### **2.17.4.2 Selectividad o especificidad.**

La selectividad es uno de los aspectos más importantes de un método analítico y puede definirse como su habilidad para medir específicamente un analito en presencia de otros componentes que pueden formar parte de la muestra. La determinación de la selectividad de un método se lleva a cabo comparando los resultados de un análisis obtenido para una muestra que contiene los posibles componentes interferentes (impurezas, compuestos de degradación, componentes de la matriz ) que podamos encontrar en la muestra real con los resultados obtenidos para una muestra sin interferentes.

### 2.17.4.3 Límite de detección y límite de cuantificación.

El límite de detección (LD) se puede definir como la concentración más baja del analito presente en una muestra que puede ser detectable, pero no necesariamente cuantificable, en las condiciones experimentales de trabajo.

Se calcula con la ecuación:

$$LD = X + (3 \times S)$$

Dónde:

X: media

S: Desviación estándar

El límite de cuantificación (LC) se puede definir como la concentración más baja del analito presente en una muestra que puede ser determinada con una precisión y exactitud aceptable en las condiciones experimentales de trabajo.

Se calcula con la ecuación:

$$LC = X + (10 \times S)$$

Dónde:

X: media

S: Desviación estándar

Ambos se expresan normalmente en términos de concentración de analito en la muestra, y en un método instrumental se pueden determinar de varias formas. En algunos casos se determinan como la relación señal/ruido (S/R) obtenida entre resultados de muestras con concentraciones conocidas de analito y resultados obtenidos en muestras blanco y se establece que el (LD) es la concentración que proporciona una relación S/R de 2 o 3 el (LC) es la concentración que proporciona una relación S/R de 10. En otros casos se estiman a través de la desviación estándar multiplicada por un factor de 10 proporciona una estimación de la señal mínima cuantificable.

En muestras de agua, el límite de cuantificación se encuentra en 0,1 mg/l. El límite superior de aplicación es hasta una concentración de 150 mg/l. En caso de concentraciones

elevadas si la muestra contiene sustancias lipófilas o tensoactivos adicionales se incrementa la posibilidad de error, determinándose valores inferiores a los reales.

#### **2.17.4.4 Linealidad.**

Para los casos donde los resultados están en función el área y concentración, se interpreta la linealidad como la capacidad del método para obtener resultados de los análisis proporcionales a la concentración del analito, en un determinado rango. El extremo superior de este rango de concentración, es el valor hasta donde llega la respuesta lineal. En el extremo inferior del intervalo de concentración, el factor limitante para cualquier caso, es el valor del límite de cuantificación.

La linealidad se determina obteniendo las mediciones del procedimiento analítico de una serie de soluciones estándar de concentraciones diferentes. Se grafica la respuesta de la medición contra la concentración del estándar, y se calcula la línea de regresión o curva de calibración.

$$y = mx + b$$

Dónde:

y: respuesta de la medición (área)

x: concentración del analito

m : pendiente

b: intercepto

El coeficiente de determinación mínimo ( $r^2$ ) se recomienda un valor igual o mayor a 0.999 a excepción de trazas se acepta 0.99.

#### **2.17.4.5 Sensibilidad.**

Mide la capacidad de un método para distinguir pequeñas diferencias en la concentración del analito. Los factores que determinan la sensibilidad son la pendiente de la recta de calibrado y la precisión, de manera que si dos métodos tienen igual precisión será más sensible que tenga una recta con mayor pendiente, y si dos métodos tienen pendiente será más sensible el que presente mayor precisión. La sensibilidad de un método puede expresarse como:

- Sensibilidad de la calibración ( $m$ ): es la pendiente de la recta de calibrado.
- Sensibilidad analítica ( $\gamma$ ): se expresa como la pendiente de la recta de calibrado dividida entre la desviación estándar de las medidas (precisión).

La sensibilidad de calibración tiene la ventaja de que es independiente de la concentración. Sin embargo como tiene la desventaja de que no tiene en cuenta la precisión de las medidas. Por su parte, la sensibilidad analítica tiene la ventaja de ser insensible a los factores de amplificación.

#### **2.17.4.6 Robustez.**

Es la capacidad del método analítico para no ser afectado por pequeños pero deliberados cambios en las condiciones experimentales. El estudio de la robustez del método trata de evaluar como la variación aleatoria de las condiciones experimentales repercuten en la variabilidad de los resultados obtenidos, expresada como desviación estándar absoluta, desviación estándar relativa coeficiente de variación de los mismos. Para evaluar la robustez del método hay que identificar cuáles son los factores experimentales.

#### **2.17.4.7 Sesgo ( $s$ ).**

(Tafur, 2014) La diferencia entre la expectativa relativa a los resultados de un ensayo o una medición y el valor verdadero. En la práctica el valor convencional de cantidad puede sustituir el valor verdadero. El sesgo es el error sistemático total en contraposición al error aleatorio.

Para determinar el sesgo puede utilizarse material de referencia, material fortificado, material control, material ensayo de aptitud: Para este fin, se debe medir un analito de concentración conocido y se determina la diferencia en valor absoluto entre el valor conocido y la media del valor obtenido. Una diferencia sistemática importante en relación al valor de referencia aceptado se refleja en un mayor valor del sesgo, cuanto más pequeño es el sesgo, mayor veracidad indica el método.

$$s = X - X_a$$

Dónde:

s= sesgo

X = lectura obtenida o valor promedio de las lecturas obtenidas.

Xa = valor asignado, valor certificado del material de referencia o valor esperado.

Para evaluar el sesgo, se debe realizar la prueba t, en la cual el  $t_{obs} < t_{crit}$ :

$$t_{calc} = \frac{[X_a - X]}{S \times \sqrt{n}}$$

Dónde:

t calc= t observado o calculado

Xa = Valor esperado o valor certificado en concentración

X= Promedio de valores leídos u observados en concentración

S= Desviación estándar

n= Número de lecturas o valores observados.

#### **2.17.4.8 Recuperación (R).**

Es la fracción de la sustancia agregada a la muestra (muestra fortificada) antes del análisis, al ser analizadas muestras fortificadas y sin fortificar.

La recuperación permite ver el rendimiento de un método analítico en cuanto al proceso de extracción y la cantidad del analito existente en la muestra original. Por lo cual, la recuperación esta intrínsecamente relacionada a las características de la matriz de la muestra.

(AOAC, 2005) Se recomienda realizar a lo menos de 4 a 6 mediciones de cada uno en lo posible en tres niveles. Se debe considerar al elegir estos niveles el rango de la curva de calibración del método, el LD y el LMP establecido. De manera que los niveles

seleccionados permitan entregar la mejor información posible respecto a la capacidad de recuperación del método, en cuanto a estos valores críticos. De acuerdo a tabla de la Asociación de Químicos Analíticos Oficiales (AOAC) el valor aceptable es de 80 a 120 %R.

Se calcula de la siguiente manera:

$$R = \left( \frac{C_e - C_o}{C_a} \right)$$

Siendo:

R= Recuperación

Ce = es la concentración de analito de la muestra enriquecida.

Co = es la concentración de analito medida en la muestra sin adicionar.

Ca = es la concentración de analito adicionado a la muestra enriquecida.

Se puede igualmente expresar en porcentaje de recuperación (%R): se calcula de la siguiente manera:

$$\%R = [ R ] \times 100$$

En caso de evaluar la recuperación, se deberá realizar prueba t , en la cual el  $t_{calc} < t_{crit}$ :

$$t_{calc} = \frac{[ 100 - \%R ]}{S \times \sqrt{n}}$$

Dónde:

t calc= t observado o calculado

R= Recuperación

S= Desviación estándar de las lecturas del porcentaje de recuperación

$n = N^\circ$  de lecturas o valores observados

Buscar  $t$  de Student teórico en tabla para grados de libertad ( $v$ ) y el porcentaje de seguridad deseado ( $1-a$ ) para un error  $a$  de 0,05, es decir con un 95% de confianza.

#### **2.17.4.9 Incertidumbre.**

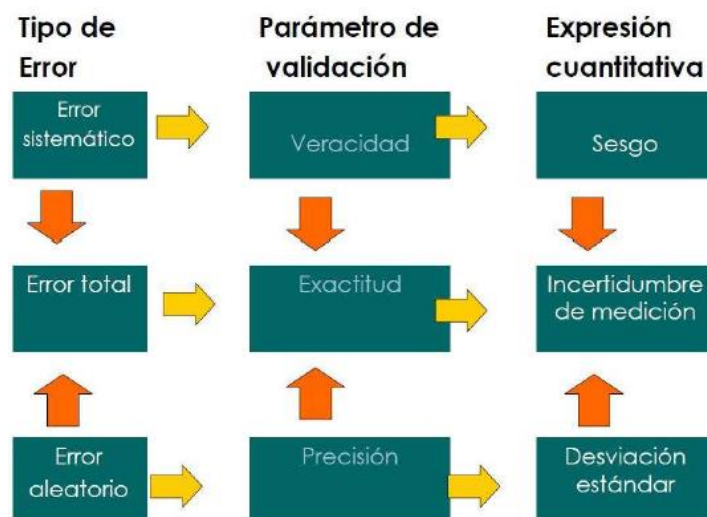
La incertidumbre de una medición es el parámetro asociado al resultado, es decir, caracteriza la dispersión de los valores que razonablemente pueden ser atribuidos al mesurando. En este sentido, es importante que para un método validado o verificado por el laboratorio, se realice la determinación de las diferentes fuentes o componentes de la incertidumbre de la medición presentes:

- a) Muestreo
- b) Efectos de la muestra: tipo de matriz, almacenamiento, etc.
- c) Sesgos Instrumentales: Las debidas a las características de los equipos utilizados para realizar las medidas tales como: deriva, resolución, magnitudes de influencia. Ejemplo: temperatura, presión.
- d) Pureza de Reactivos: materiales de referencia, preparación de estándares.
- e) Analista: Las debidas a la serie de mediciones: variaciones en observaciones repetidas bajo condiciones aparentemente iguales. Ejemplo: paralelaje.
- f) Condiciones de medición: Las debidas al certificado de calibración: en él se establecen las correcciones y las incertidumbres asociadas a ellas, para un valor de  $k$  determinado, en las condiciones de calibración. Ejemplo: material volumétrico, etc.
- g) Condiciones de medición: temperatura, humedad, etc.

En general, la incertidumbre está dada por los errores sistemáticos y aleatorios presentes en el ensayo analítico.

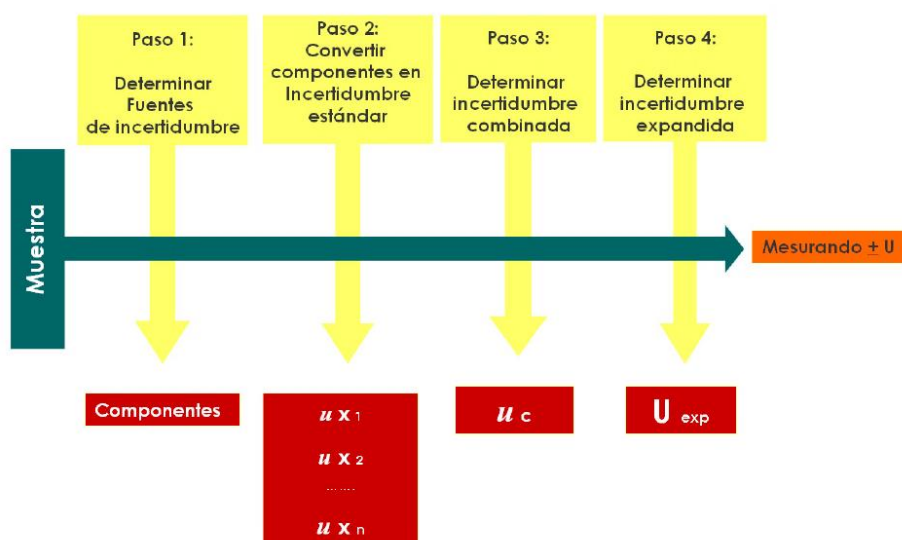
El método está validado ya que la incertidumbre no sobrepasa el valor del 20% que dice la guía alemana Eurachem para métodos validados. (Eurachem Guide, 1998).





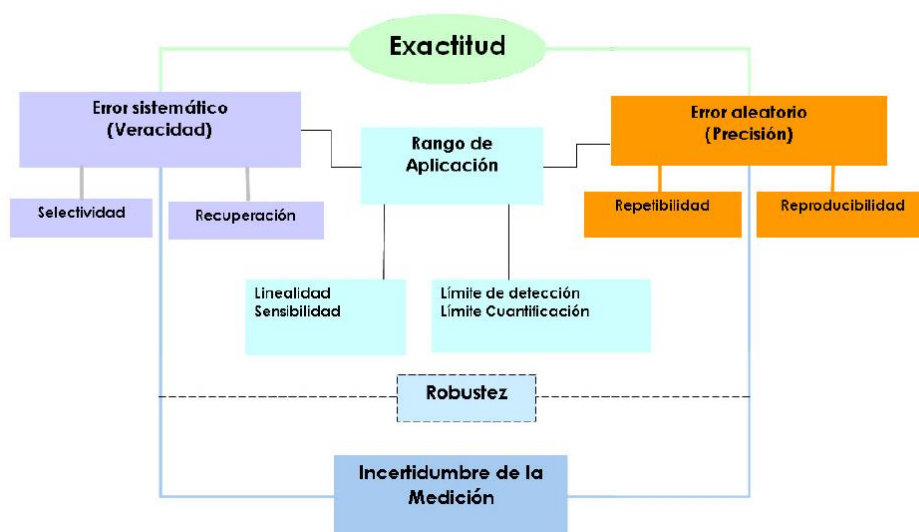
**Figura 16.** Total de Errores.  
(Duffau, y otros, 2010)

Generalmente para el análisis de las fuentes de incertidumbre se utiliza el diagrama de espina de pescado u otro tipo de diseño esquemático que permita con facilidad identificar las fuentes de incertidumbre presentes durante el proceso analítico. Ejemplo:



**Figura 17.** Diagrama con los pasos para la determinación de la incertidumbre.  
(Tafur, 2014)

En este sentido, el laboratorio debe demostrar que las características de desempeño del método analítico utilizado, son adecuadas para el uso destinado:



**Figura 18.** Diagrama general y los pasos principales que se deben tomar en cuenta para la validación.

(Tafur, 2014)

## CAPÍTULO 3 METODOLOGÍA

### 3.1 MATERIALES, EQUIPOS, REACTIVOS Y ESTÁNDARES.

#### 3.1.1 EQUIPOS.

- Cromatógrafo de Gases con Autosampler y Detector de Captura de Electrones (ECD).
- Campana de extracción de gases de solventes orgánicos.
- Equipo para Extracción en Fase Sólida.
- Balanza analítica de precisión.

#### 3.1.2 MATERIALES.

- Pipetas de vidrio de 10 ml.
- Embudo de vidrio.
- Guantes de nitrilo.
- Probetas de vidrio de 100 ml.
- Papel filtro.
- Balones color ámbar y blancos de 10 ml.
- Micropipetas y puntas de 0 a 1000 ul.
- Viales con tapa rosca y septa de 2 ml.
- Matraz de 1000 ml.
- Gradilla.
- Tubo de ensayo.
- Cartuchos para extracción en fase sólida (SPE) C18.
- Columna capilar de sílice OPTIMA-5-MS-0.25  $\mu\text{m}$ ; 30 m x 0.32 mm.

#### 3.1.3 REACTIVOS.

- Hexano grado pesticida  $\text{C}_6\text{H}_{14}$ .
- Acetona grado pesticida  $\text{C}_3\text{H}_6\text{O}$ .
- Cloruro de metileno grado pesticida  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ .
- Metanol grado pesticida  $\text{CH}_4\text{O}$ .
- Sulfato de Sodio Anhidro  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ .
- Nitrógeno grado 5 (99.999% de pureza).

Nota: el uso de solventes orgánicos grado pesticida, está regulado por el Consejo Nacional de Control de Sustancias Estupefacientes y Psicotrópicas (CONSEP) Anexo B.

### **3.1.4 ESTÁNDARES.**

- Estándares puros de plaguicidas organoclorados (4.4'-DDT, 4.4'-DDD y 4.4'-DDE).
- Material de referencia certificado (CRM).

### **3.2 PROCEDIMIENTO.**

La presente investigación se realizó en el Laboratorio de Control de Calidad de agua de la EMAPA-I, para la determinación de plaguicidas organoclorados por cromatografía de gases en agua potable se desarrolló una investigación cuantitativa para la validación del método analítico.

Para el análisis fue necesario iniciar con la configuración del equipo y las condiciones óptimas para que las técnicas en cromatografía de gases sean fiables, posterior se preparó los estándares de plaguicidas organoclorados en diferentes concentraciones conocidas en un rango adecuado con el fin de cumplir la norma INEN 1108: 2011 para el agua potable; así como también se preparó el material de referencia certificado (CRM) utilizando el método de extracción en fase sólida (SPE); a continuación se realizó las corridas cromatográficas para la identificación de los picos y sus tiempos de retención, luego se hicieron las corridas de los estándares realizando 4 repeticiones (corridas) de cada concentración en 3 días diferentes obteniendo los picos de cada concentración de los estándares; se realizó las curvas de calibración con los datos obtenidos de las áreas de los picos y las concentraciones las cuales sirven para la cuantificación de las muestras, finalmente se hizo las corridas del material de referencia certificado verificando y comprobando que el equipo se calibró correctamente.

Se aplicó un diseño experimental no probabilístico y la metodología estadística para el análisis cuantitativo, fue necesario realizar la validación del método analítico. Las muestras a analizar son seleccionadas en función de la accesibilidad o criterio del investigador, tomando en cuenta que las muestras elegidas son las adecuadas para desarrollar el análisis

Los parámetros estadísticos a desempeñarse, son características de validación que necesitan ser evaluadas y que definen el rendimiento de un método, los parámetros a evaluar son:

Linealidad, límites (límites de detección y límites de cuantificación), precisión (repetibilidad, reproducibilidad), exactitud, incertidumbre, entre otras.

PARAMETRO A EVALUAR	CARACTERISTICAS	MÉTODO CUALITATIVO	MÉTODO CUANTITATIVO NORMALIZADO	MÉTODO CUANTITATIVO MODIFICADO
LINEALIDAD	Rango lineal	No	Si	Si
SENSIBILIDAD	Pendiente	No	Si o No	Si
LÍMITES	Detección (LD) y Cuantificación (LC)	Si	Si o No	Si
PRESICIÓN	Repetibilidad y Reproducibilidad	No	Si	Si
VERACIDAD	Sesgo (s) y Recuperación (R)	No	Si o No	Si o No
INCERTIDUMBRE	Acumulada y Expandida	No	Si	Si

**Figura 19.** Parámetros estadísticos de validación.  
Adaptación de: (Duffau, y otros, 2010)

Lo ideal es realizar varias curvas y poder comprobar con la linealidad del coeficiente de correlación y la otra forma de comprobar es con la muestra de referencia.

En los resultados se incluye la curva de calibración, los datos de concentración y altura de los picos de cada muestra o estándar.

Para la modificación y calibración del equipo se tomaron como referencias los métodos normalizados de la Agencia de Protección Ambiental (EPA) en donde detalla las condiciones de separación que se deben cumplir, métodos referencias: 8081A Pesticidas organoclorados por cromatografía de gases, 508 Determinación de plaguicidas clorados en agua por cromatografía con una captura de electrones, 3535 Extracción en fase sólida (SPE), 608 Plaguicidas Organoclorados y PCBs.

### 3.2.1 SELECCIÓN DE LAS CONDICIONES DE TRABAJO.

Aparte de la elección de la columna a utilizar, existen algunos parámetros experimentales sobre los que se puede influir a la hora de realizar una separación cromatográfica.

### **3.2.1.1 Consideraciones antes de calibrar el equipo.**

#### 3.2.1.1.1 Gases.

El Argón, el Helio y el Nitrógeno poseen el mismo comportamiento químico debido a que éstos gases son poco reactivos. No existen diferencias químicas considerables que permitan realizar alguna diferencia entre ellos. Por ello, se aplica cualquier propiedad física que permita hacer una diferenciación entre ellos para aplicarse con propósitos de identificación. (Molina, 2013)

#### 3.2.1.1.2 Rampas de temperatura.

La temperatura es una variable importante, ya que de ella va a depender el grado de separación de los diferentes analitos. Para ello, debe ajustarse con una precisión de décimas de grado. Dicha temperatura depende del punto de ebullición del analito o analitos, como también la máxima temperatura de funcionamiento de la columna (fase estacionaria), y por lo general se ajusta a un valor igual o ligeramente superior a él. Para estos valores, el tiempo de elución va a oscilar entre 2 y 30-40 minutos. Si tenemos varios componentes con diferentes puntos de ebullición, se ajusta la llamada rampa de temperatura con lo cual ésta va aumentando ya sea de forma continua o por etapas. En muchas ocasiones, el ajustar correctamente la rampa puede significar separar bien o no los diferentes analitos. Es recomendable utilizar temperaturas bajas para la elución ya que aunque a mayor temperatura la elución es más rápida, se corre el riesgo de descomponer el analito. Se puede programar la rampa tanto para aumentar como para disminuir la temperatura del horno para que no haya solapamiento de los picos. (Giménez, 2012)

La temperatura del detector, aunque en algunos tipos de detectores puede influir sobre la respuesta. La temperatura del detector debe ser siempre más elevada que la máxima temperatura de trabajo (o de limpieza) a que se someta la columna, con el fin de evitar que se puedan condensar en el detector compuestos eluidos de baja volatilidad; aparte de este criterio, las únicas limitaciones serán las que puedan venir determinadas por el tipo concreto de instrumento de que se trate.

La temperatura de inyección en general, debe ser lo suficientemente elevada como para volatilizar completamente todos los componentes de la muestra, no debiéndose elevar más allá de este nivel para evitar posibles descomposiciones térmicas de la muestra. Estos

criterios son los únicos a tener en cuenta salvo en el caso de sistemas de inyección especiales (inyecciones “splitless”, “cold on column”, etc.).

La temperatura de la columna en muestras complejas y con componentes que presentan volúmenes de retención muy diferentes, es muy conveniente recurrir a técnicas de programación de temperatura, es decir, incrementar la temperatura de la columna según un programa de calentamiento previamente establecido de temperatura en función del tiempo. En estos casos, resulta muy conveniente realizar algunas pruebas previas con una velocidad de calentamiento relativamente elevada y cubriendo un rango de temperaturas muy amplio, con el fin de estimar la temperatura a la que eluye cada componente y la resolución que presentan los picos; a la vista de los resultados obtenidos, se podrá fijar mayor precisión el intervalo de temperatura a utilizar, así como la velocidad de calentamiento, teniendo en cuenta que la mayor separación entre los componentes se obtiene siempre con velocidades de calentamiento muy pequeñas. (Murillo, 2012)

#### 3.2.1.1.3 Puntos de ebullición solventes volátiles

- Hexano: 68 °C
- Acetona: 56 °C
- Cloruro de metileno: 39,6 °C
- Metanol: 65 °C

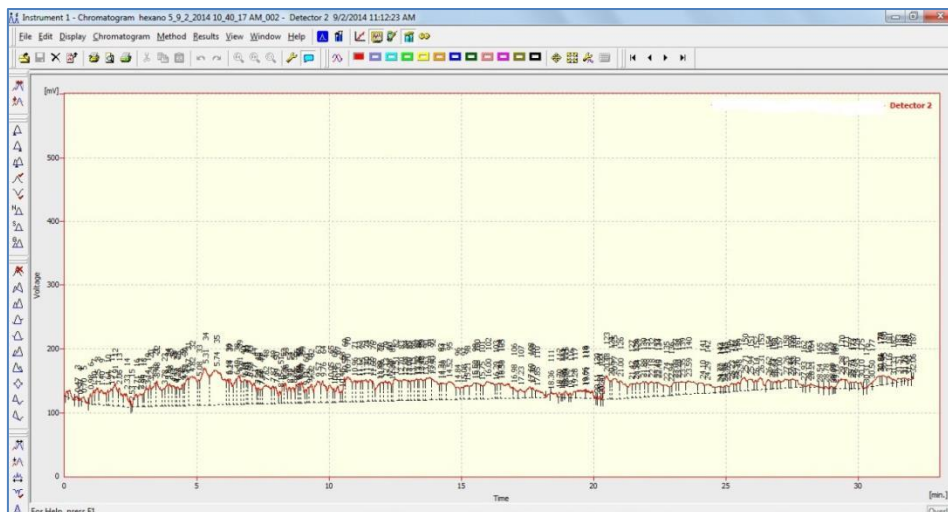
#### 3.2.1.1.4 EPA 508.

Si el puerto de inyección o delante de la columna está sucio el DDT y endrín se degradan fácilmente en el puerto de inyección. Puede estar sucio por el resultado de la acumulación de residuo alto de ebullición de inyección de la muestra. Se comprueba si hay problemas de degradación mediante la inyección de un estándar de nivel medio que contiene DDT o endrín. Si la degradación de cualquiera DDT (DDE y DDD) y endrin (endrín cetona y endrín aldehído) supera el 20%, tomar medidas correctivas antes de proceder con la calibración. (EPA 508, 2014)

### 3.2.1.2 Pruebas de ajustes en línea base.

#### 3.2.1.2.1 Prueba 1.

- Columna capilar de sílice fundida OPTIMA – 5 – MS – 0.25  $\mu\text{m}$  (30 mx 0,32 mm ID) 5% difenil - 95% dimetilpolisiloxano, marca MACHEREY – NAGEL.
- Gas portador (Nitrógeno)
- Presión gas portador 40 Psi entrada
- Flujo del gas 1.8 ml/ min
- Temperatura del inyector 270 °C
- La temperatura del detector 320 °C
- Temperatura inicial 110 °C, mantenga 1.5 min
- Programa de temperatura 110 °C a 150 °C a 40 °C / min, mantenga 2 minutos a 150 °C, 150 °C a 250 °C a 2 °C / min, mantenga 2 minutos a 250 °C, 250 °C a 300 °C a 1 °C / min. mantenga 2 minutos a 300 °C, 300 °C a 310 °C a 2 °C / min
- Temperatura final 310 °C, mantenga 2 min.

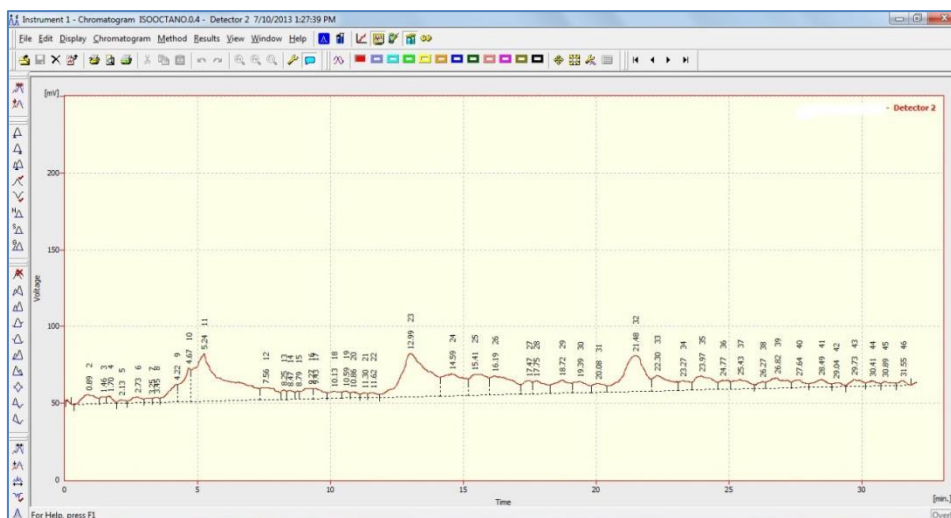


**Gráfico 7.** Línea base Prueba 1 (cromatograma).  
(Aguirre, 2015)



## 3.2.1.2.2 Prueba 2.

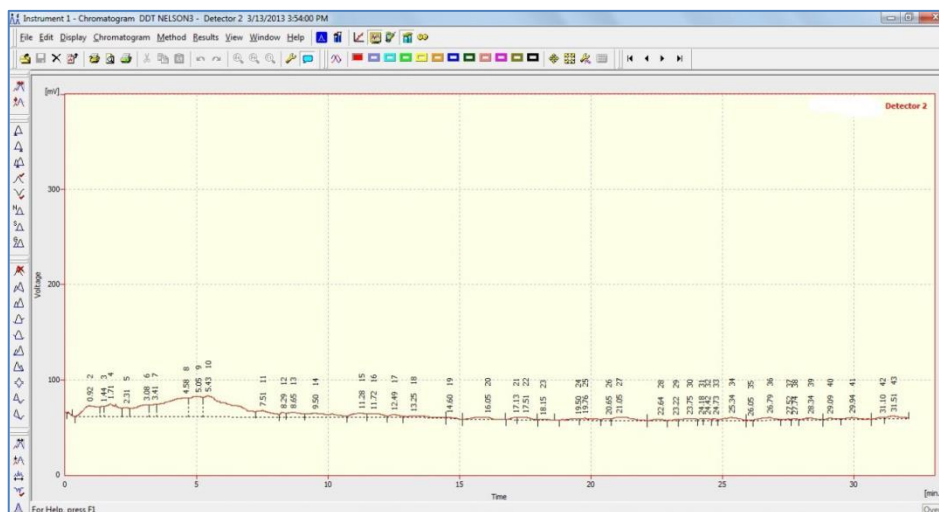
- Columna capilar de sílice fundida OPTIMA – 5 – MS – 0.25  $\mu\text{m}$  (30 mx 0,32 mm ID)  
5% difenil - 95% dimetilpolisiloxano, marca MACHEREY – NAGEL.
- Gas portador (Nitrógeno)
- Presión gas portador 45 Psi entrada
- Flujo del gas 1.5 ml/ min
- Temperatura del inyector 270  $^{\circ}\text{C}$
- La temperatura del detector 310  $^{\circ}\text{C}$
- Temperatura inicial 110  $^{\circ}\text{C}$ , mantenga 0.0 min
- Programa de temperatura 110  $^{\circ}\text{C}$  a 150  $^{\circ}\text{C}$  a 40  $^{\circ}\text{C}$  / min, mantenga 0.0 minutos a 150  $^{\circ}\text{C}$ , 150  $^{\circ}\text{C}$  a 250  $^{\circ}\text{C}$  a 2  $^{\circ}\text{C}$  / min, mantenga 1.5 minutos a 250  $^{\circ}\text{C}$ , 250  $^{\circ}\text{C}$  a 300  $^{\circ}\text{C}$  a 10  $^{\circ}\text{C}$  / min.
- Temperatura final 300  $^{\circ}\text{C}$ , mantenga 2 min.



**Gráfico 8.** Línea base Prueba 2 (cromatograma).  
(Aguirre, 2015)

### 3.2.1.2.3 Prueba 3.

- Columna capilar de sílice fundida OPTIMA – 5 – MS – 0.25  $\mu\text{m}$  (30 m x 0,32 mm ID) 5% difenil - 95% dimetilpolisiloxano, marca MACHEREY – NAGEL.
- Gas portador Nitrógeno.
- Presión gas portador 60 Psi entrada.
- Flujo del gas 1.5 ml / min.
- Temperatura del inyector 270  $^{\circ}\text{C}$ .
- La temperatura del detector 275  $^{\circ}\text{C}$ .
- Temperatura inicial 100  $^{\circ}\text{C}$ , mantenga 0.0 min.
- Programa de temperatura 100  $^{\circ}\text{C}$  a 160  $^{\circ}\text{C}$  a 10  $^{\circ}\text{C}$  / min, mantenga 0.0 minutos a 160  $^{\circ}\text{C}$ , 160  $^{\circ}\text{C}$  a 190  $^{\circ}\text{C}$  a 5  $^{\circ}\text{C}$  / min, mantenga 0.0 minutos a 190  $^{\circ}\text{C}$ , 190  $^{\circ}\text{C}$  a 230  $^{\circ}\text{C}$  a 2  $^{\circ}\text{C}$  / min.
- Temperatura final 230  $^{\circ}\text{C}$ , mantenga 0.0 min.



**Gráfico 9.** Línea base Prueba 3 línea base estable (cromatograma).  
(Aguirre, 2015)

### 3.2.1.2.4 Prueba 4.

Es importante optimizar la sensibilidad a la hora de la separación de los picos de los analitos de interés, es por eso que hay que realizar pruebas con el make up y con el flujo de inyección.

- El make-up es un gas de arrastre adicionado al efluente de la columna, optimiza y compensa el flujo de gas para una máxima sensibilidad antes de que llegue al Detector.
- Inyección Splitless o inyección sin división, es apropiada para análisis de trazas de analitos que constituyen menos de 0,01% de la muestra. (Zhunaula, 2011)

Make up ml/min	Splitless ml/min	Sensibilidad S/R	Pico
50	10.5 ; 5.5 ; 2.5 ; 1.5	x ; x ; x ; x	ninguno
40	10.5 ; 5.5 ; 2.5 ; 1.5	v ; v ; x ; x	picos bajos
<b>30</b>	<b>10.5 ; 5.5 ; 2.5 ; 1.5</b>	<b>v ; v ; x ; x</b>	<b>picos altos</b>
20	10.5 ; 5.5 ; 2.5 ; 1.5	v ; x ; x ; x	pico bajo
10	10.5 ; 5.5 ; 2.5 ; 1.5	x ; x ; x ; x	ninguno

**Figura 20.** Prueba Make up e Inyección Splitless.  
(Aguirre, 2015)

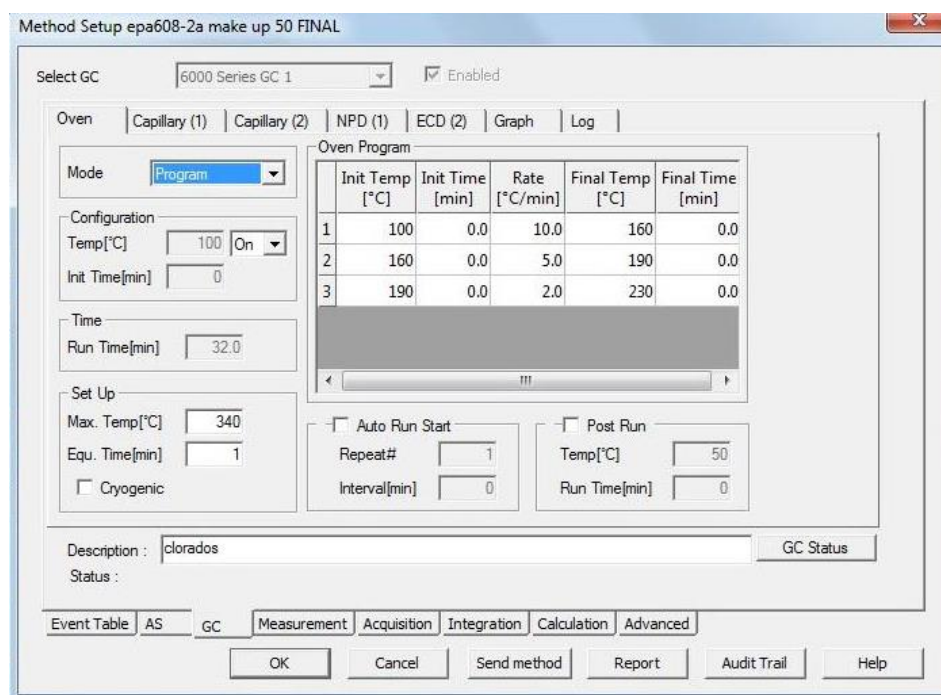
Los mejores resultados a la hora de la separación de los picos estimando la sensibilidad señal/ruido (S/R) fueron:

- Make up 30 ml / min.  
Inyección splitless (10.5 ml / min).

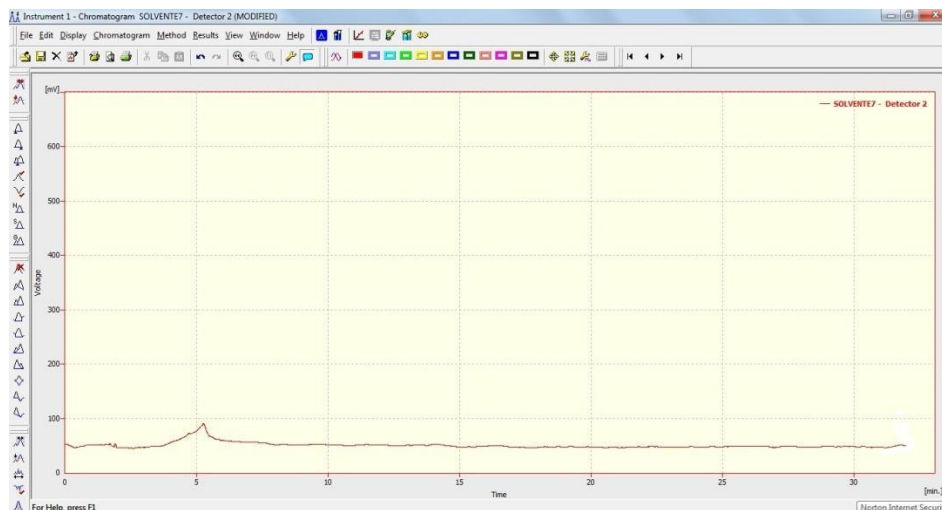
### 3.2.1.3 Condiciones finales óptimas para el análisis de plaguicidas organoclorados.

**Tabla 1.** Condiciones para análisis de plaguicidas organoclorados.

Equipo:	Cromatógrafo de gases, Autosampler y gas carrier Nitrógeno				
Detector:	Captura de Electrones ECD 270 °C				
Inyector:	Automático de líquidos Splitless 270 °C				
Presión del Gas:	60 psi entrada				
Columna:	Capilar de sílice fundida. 5% difenil - 95% dimetilpolisiloxano. Dimensiones: Longitud: 30 m. Diámetro Interno: 0,32 mm				
Horno:	Init. Temp. °C	Init. Time. min.	Rate. °C/min	Final Temp. °C	Final Time. min
1	100	0.0	10.0	160	0.0
2	160	0.0	5	190	0.0
3	190	0.0	2.0	230	0.0



**Gráfico 10.** Ajustes software cromatógrafo de gases.  
(Aguirre, 2015)



**Gráfico 11.** Línea base final óptima (cromatograma). (Anexo D).  
(Aguirre, 2015)

### 3.2.2 PREPARACIÓN DE LOS ESTÁNDARES.

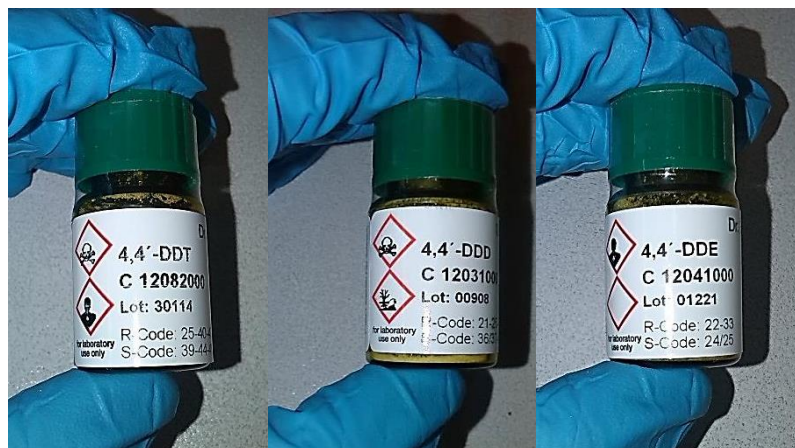
Para la preparación de muestras se utilizó el método de patrón externo, en donde se preparó una serie de disoluciones de concentraciones decrecientes, del patrón correspondiente al compuesto a cuantificar. El intervalo de concentraciones ha de ser similar o estar en un rango a la concentración del analito en la muestra problema. Se sugiere realizar varias diluciones acrecientes de concentraciones para cantidades pequeñas, evitando pérdidas significativas entre dilución a dilución. (Fernández & García, 2012)

Se utilizó estándares de plaguicidas organoclorados con purezas sumamente altas para garantizar la efectividad en los resultados. Inicialmente se pesó 0.001 g. en la balanza analítica y se aforó en un balón de 10 ml. Y se obtuvieron soluciones madre de 1000 mg/l (ppm) a partir de estas soluciones fuimos realizando las siguientes diluciones a 100 mg/l (ppm) posteriormente a 10 mg/l (ppm) a 1 mg/l (ppm) o 1000 ug/l (ppb) y así hasta obtener las concentraciones que necesitábamos para realizar los análisis 2,00; 1,50; 1,00; 0,50 ug/l ppb se utilizaron micropipetas y puntas de 0 a 1000 ul. (microlitros) ya que los volúmenes que se trasladan de un balón a otro son pequeños. Como disolvente se utilizó el Hexano como recomiendan las fichas técnicas de los estándares puros.

Se realizó de esta forma el procedimiento de las diluciones partiendo de una concentración madre de 1000 mg/l para que no existan pérdidas significativas hasta llegar a las concentraciones deseadas.

Los estándares puros se encuentran en estado sólido (en polvo), con un porcentaje de pureza de:

- 4,4'-DDT = 99.5%
- 4,4'-DDD = 99.5%
- 4,4'-DDE = 98.0%



**Gráfico 12.** Estándares puros de plaguicidas organoclorados.  
(Aguirre, 2015)

Las diluciones que se utilizó para realizar los análisis y la calibración son:

- 0.50 ug/l , 1.00 ug/l , 1.50 ug/l y 2.00 ug/l (ppb)



**Gráfico 13.** Diluciones de los estándares de plaguicidas.  
(Aguirre, 2015)

Para realizar las diluciones de los estándares en las diferentes concentraciones utilizamos la siguiente ecuación:

$$V_i \times C_i = V_f \times C_f$$

Dónde:

- $V_i$  = Volumen inicial
- $C_i$  = Concentración inicial
- $V_f$  = Volumen final
- $C_f$  = Concentración final

### **3.2.3 IDENTIFICACIÓN DE PLAGUICIDAS.**

Se realizó corridas bajo las mismas condiciones cromatográficas de los estándares puros con una concentración de 2 ug/l con fines cualitativos para determinar los tiempos de retención de cada uno. Con el tiempo de retención resulta difícil asegurar la presencia de un componente en una mezcla, aunque si se puede afirmar la ausencia. La identificación requiere siempre el uso de patrones en las mismas condiciones cromatográficas. Antes de la cuantificación hay que tener en cuenta la identificación para confirmar la adecuada configuración de separación cromatográfica, en la Tabla 2 se muestran los tiempos de retención de los picos de los estándares de plaguicida organoclorados.

### **3.2.4 CURVAS DE CALIBRACIÓN.**

Las curvas de calibración se basa en la existencia de una relación en principio lineal entre un carácter medible (área en los enfoques de cromatografía) y la variable a determinar (concentración). Para ello, se efectuaron diluciones de los estándares organoclorados de concentraciones conocidas y se produce su lectura y el consiguiente establecimiento de una función matemática que relacione ambas.

Para construir y graficar las curvas de calibración se utilizaron los resultados de las corridas de los diferentes estándares (área del pico y concentración) las cuales deben ser lineales caso contrario no servirían. Estas curvas sirven para la cuantificación de los analitos de una muestra.

### 3.2.5 CUANTIFICACIÓN.

Después de haber realizado las curvas de calibración lineales, se realizaron las corridas con el material de referencia certificado (CRM) y mediante la sustitución de la variable a determinar (concentración) en la ecuación de la recta, se obtiene la concentración de esta. Entonces la respuesta del material de referencia certificado (CRM) puede cuantificarse.

### 3.2.6 DETERMINACIÓN Y CÁLCULO DE PARÁMETROS ESTADÍSTICOS.

(Duffau, y otros, 2010) Para los fines de una validación, se utilizan normalmente ciertas mediciones estadísticas, que ayudaron a establecer si el método se encuentra dentro de un parámetro aceptable, normalmente se determinan las siguientes:

- **Media:** Conocida también como media aritmética o promedio, es la cantidad total de la variable (muestra o medida) distribuida a partes iguales entre cada observación. En términos matemáticos, es igual a la suma de todos sus valores dividida entre el número de sumandos:

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

Dónde:

$x_i$  = valor de una lectura.

$n$  = número de lecturas

- **Desviación estándar ( $s$ ,  $S$ ):** Es el promedio de lejanía de los valores obtenidos (lecturas) respecto del Promedio:

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

Dónde:

$x_i$  = valor de una lectura.

$X$  = promedio de la totalidad de lecturas.

$n$  = número de lecturas.



- Coeficiente de variación (CV): Desviación estándar dividida por la media. También es conocida como desviación estándar relativa (RSD). El coeficiente de variación puede ser expresado en porcentaje:

$$\%CV = \frac{S}{X} \times 100$$

Dónde:

S = desviación estándar de las lecturas.

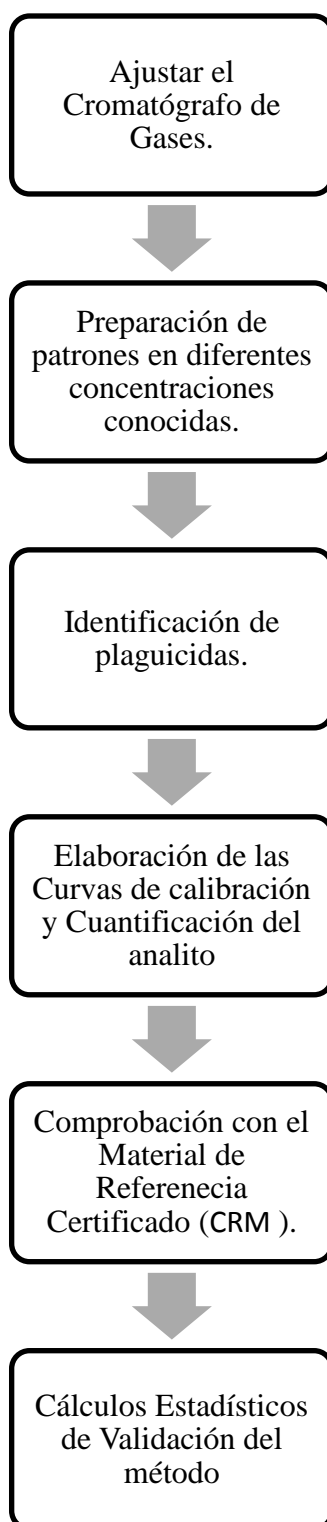
X = promedio de la totalidad de lecturas.

Los cálculos estadísticos se realizaron en un libro del programa Microsoft Excel, con fórmulas y celdas que hacen que se corrijan automáticamente los resultados si se cambia uno o más valores.

(Toasa, 2012) Los parámetros estadísticos de validación permitieron demostrar que los resultados producidos por el mismo son fiables, y que el método es adecuado para su respectiva aplicación el laboratorio.

- Límite de Detección.
- Límite de Cuantificación.
- Linealidad.
- Precisión (Repetibilidad y Reproducibilidad)
- Exactitud
- Función respuesta.
- Incertidumbre.
- Análisis de varianza.

### 3.2.7 DIAGRAMA DE FLUJO DETERMINACIÓN DE PLAGUICIDAS ORGANOCLORADADOS.



**Figura 21.** Diagrama de flujo para la determinación de DDT, DDD y DDE. (Aguirre, 2015)

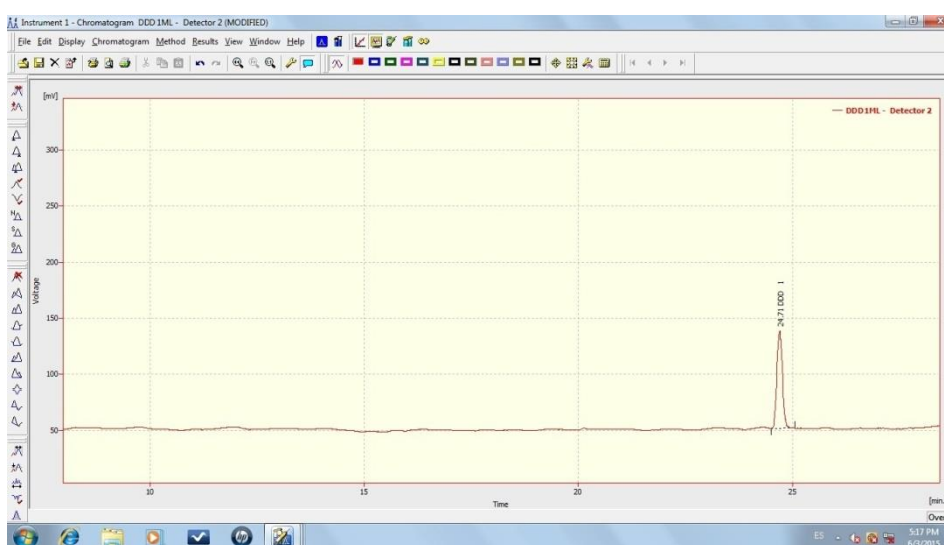
## CAPÍTULO 4 RESULTADOS Y DISCUSIONES

### 4.1 ANÁLISIS CROMATOGRÁFICO DE LOS ESTÁNDARES.

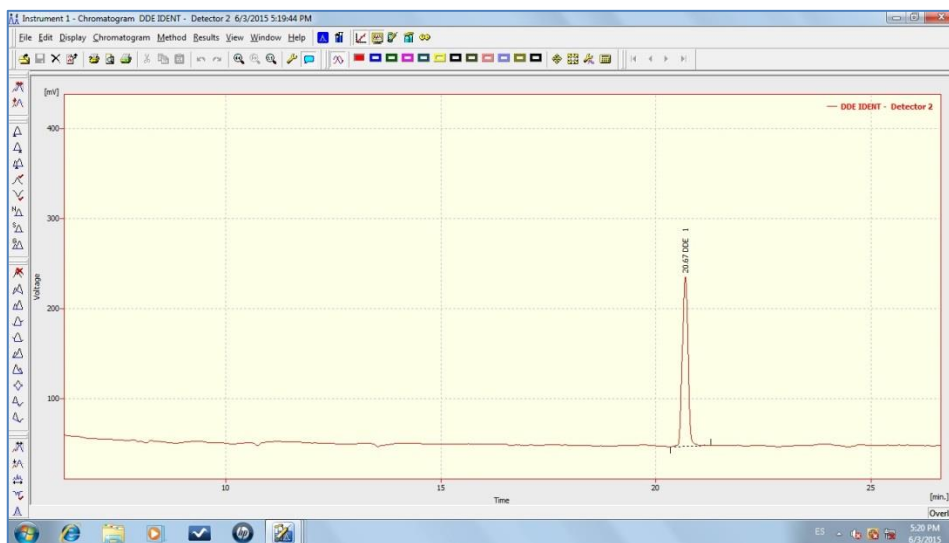
Para el análisis cromatográfico se corrieron individualmente los tres estándares, en donde inicialmente se procedió a identificar cada uno de los picos en los diferentes tiempos de retención. Se realizó corridas bajo las mismas condiciones cromatográficas con una concentración de 2 ug/l y un volumen de inyección de 2 ul. se obtuvieron como resultado los gráficos 11, 12 y 13.



**Gráfico 14.** Identificación del DDT. (Anexo D).  
(Aguirre, 2015)



**Gráfico 15.** Identificación del DDD. (Anexo D).  
(Aguirre, 2015)



**Gráfico 16.** Identificación del DDE. (Anexo D).  
(Aguirre, 2015)

**Tabla 2.** Tiempos de retención de los estándares.

Estándar	Tiempo de retención (min.)
4.4' - DDT	26.993
4.4' - DDD	24.469
4.4' - DDE	22.005

## 4.2 CURVA DE CALIBRACIÓN CON LOS ESTÁNDARES DE PLAGUICIDAS.

Se realizaron un sin número de corridas para hasta lograr que las curvas sean perfectas y lleguen lo más posible a 1 en el coeficiente de determinación y correlación.

En la tabla 3, tabla 4 y tabla 5 se presentan los datos de todas las corridas correspondientes a las áreas y concentración de los patrones de cada estándar para elaborar las curvas de calibración.

**Tabla 3.** Áreas y repeticiones del 4.4'-DDT.

<b>Estándar</b>				
<b>DDT ppb</b>	<b>Área(mv/s)</b>			
2,00 ug/l	r1	r2	r3	r4
DÍA 1	138,876	139,394	137,919	135,441
DÍA 2	143,784	139,696	136,989	136,315
DÍA 3	139,441	137,254	136,742	135,568
1,50 ug/l	r1	r2	r3	r4
DÍA 1	120,689	121,296	120,581	121,009
DÍA 2	119,522	118,658	118,736	120,736
DÍA 3	118,989	118,567	118,983	120,678
1,00 ug/l	r1	r2	r3	r4
DÍA 1	98,478	95,009	100,009	99,087
DÍA 2	95,688	97,688	96,309	98,309
DÍA 3	97,339	96,455	98,999	99,998
0,50 ug/l	r1	r2	r3	r4
DÍA 1	78,508	75,896	78,678	77,679
DÍA 2	77,826	78,009	76,998	78,889
DÍA 3	75,508	76,725	78,889	78,998

**Tabla 4.** Áreas y repeticiones del 4.4'-DDD.

<b>Estándar</b>				
<b>DDD ppb</b>	<b>Área(mv/s)</b>			
2,00 ug/l	r1	r2	r3	r4
DÍA 1	132,950	134,495	143,25	143,89
DÍA 2	133,989	135,49	141,246	141,89
DÍA 3	134,963	133,49	140,246	138,89
1,50 ug/l	r1	r2	r3	r4
DÍA 1	96,296	111,987	112,581	116,001
DÍA 2	96,522	112,658	113,736	115,736
DÍA 3	94,080	112,567	113,983	116,678
1, 00 ug/l	r1	r2	r3	r4
DÍA 1	61,761	73,733	72,622	78,436
DÍA 2	45,789	75,765	71,896	75,776
DÍA 3	43,876	77,897	66,786	73,987
0,50 ug/l	r1	r2	r3	r4
DÍA 1	35,765	32,896	35,678	40,679
DÍA 2	36,826	28,009	32,998	39,889
DÍA 3	34,508	28,725	31,889	33,998

**Tabla 5.** Áreas y repeticiones del 4.4'-DDE.

<b>Estándar</b>	<b>Área(mv/s)</b>			
<b>DDE ppb</b>	r1	r2	r3	r4
2, 00 ug/l				
DÍA 1	327,869	331,159	329,007	328,685
DÍA 2	315,720	322,261	330,96	330,016
DÍA 3	325,671	331,743	331,01	332,001
1,50 ug/l				
DÍA 1	267,541	271,001	268,001	271,584
DÍA 2	269,951	270,01	270,008	267,003
DÍA 3	270,941	269,753	271,002	266,321
1, 00 ug/l				
DÍA 1	199,496	202,365	205,001	201,693
DÍA 2	205,856	210,003	205,003	205,002
DÍA 3	210,838	210,001	204,005	208,006
0,50 ug/l				
DÍA 1	146,432	147,369	148,789	143,963
DÍA 2	140,987	143,695	145,896	145,998
DÍA 3	140,107	143,569	147,369	148,345

Con las áreas y concentraciones se realizaron las curvas de calibración para los estándares, obteniéndose la ecuación de la línea recta lo cual se demostró que si existe correlación entre ellas.

Se presentan las curvas de calibración, de todos los días y sus repeticiones (Anexo D), para el 4.4'-DDT, en las figuras 22, 23, 24,... hasta la 33; para el del 4.4'-DDD, en las figuras 34, 35, 36,... hasta la 45; y para el 4.4'-DDE, en las figuras 46, 47, 48,... hasta la 57.

#### **4.2.1 MEJORES CURVAS DE CALIBRACIÓN DE LOS ESTÁNDARES PUROS.**

Se presentan los datos de todas las mejores corridas correspondientes a las áreas y concentración de los patrones de cada estándar para elaborar las curvas de calibración en el equipo, teniendo en cuenta que las mejores corridas no se refieren a las áreas altas ni bajas sino a las que se encuentran en valores promedio.

En la tabla 6 del 4.4'-DDT, tabla 7 del 4.4'-DDD y tabla 8 del 4.4'-DDE. Con el promedio de las áreas y concentraciones se realizó una curva de calibración para los estándares,

obteniéndose la ecuación de la línea recta. Se presentan las curvas de calibración para el 4.4'-DDT, figura 53; para el 4.4'-DDD, figura 54 y para el 4.4'-DDE, figura 55.

**Tabla 6.** Datos promedio de áreas y concentración 4.4'-DDT.

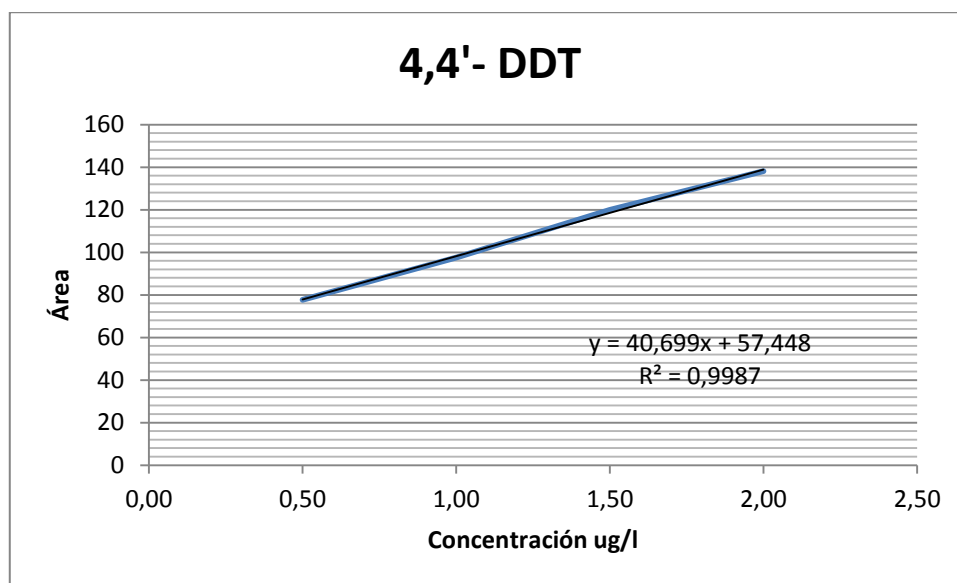
Concentración ug/l	Área x	Área x̄
2,00	137,908	138,118
	139,196	
	137,251	
1,50	120,894	119,870
	119,413	
	119,304	
1,00	98,146	97,581
	96,999	
	97,598	
0,50	77,690	77,717
	77,931	
	77,530	

**Tabla 7.** Datos promedio de áreas y concentración 4.4'-DDD.

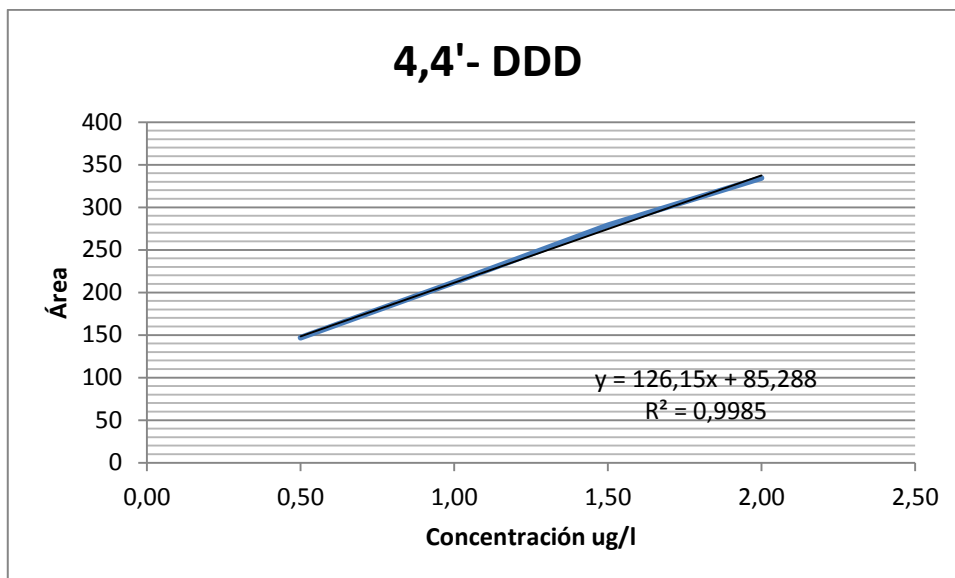
Concentración ug/l	Área x	Área x̄
2,00	136,898	137,316
	138,154	
	136,897	
1,50	109,216	109,402
	109,663	
	109,327	
1,00	71,638	68,194
	67,307	
	65,637	
0,50	36,255	34,322
	34,431	
	32,280	

**Tabla 8.** Datos promedio de áreas y concentración 4.4'-DDE.

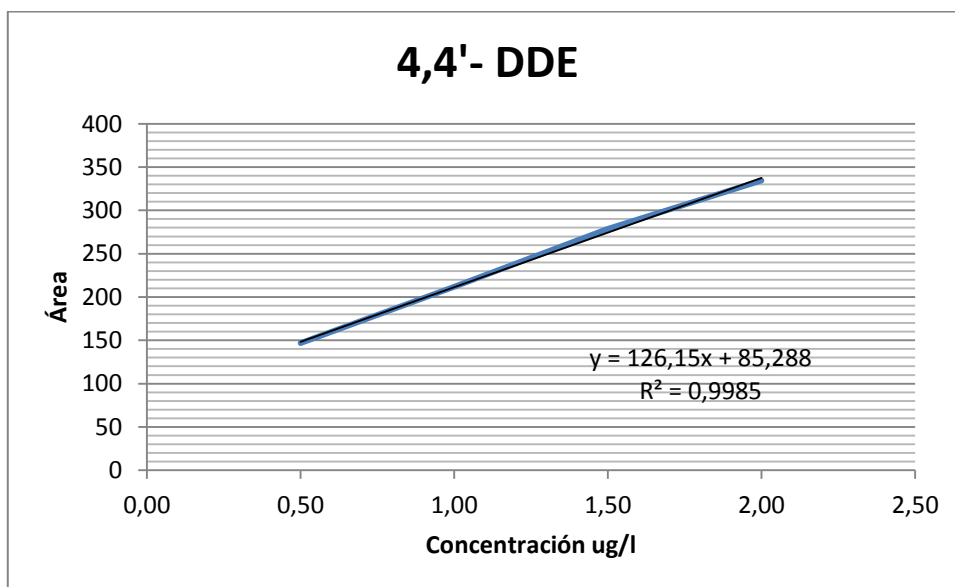
Concentración ug/l	Área x	Área x̄
2,00	341,630	334,608
	327,189	
	335,006	
1,50	274,668	278,811
	281,48	
	280,285	
1,00	203,981	211,763
	213,609	
	217,699	
0,50	148,138	146,710
	145,894	
	146,098	

**Figura 58.** Curva de calibración para el 4.4'-DDT (promedio).  
(Aguirre, 2015)



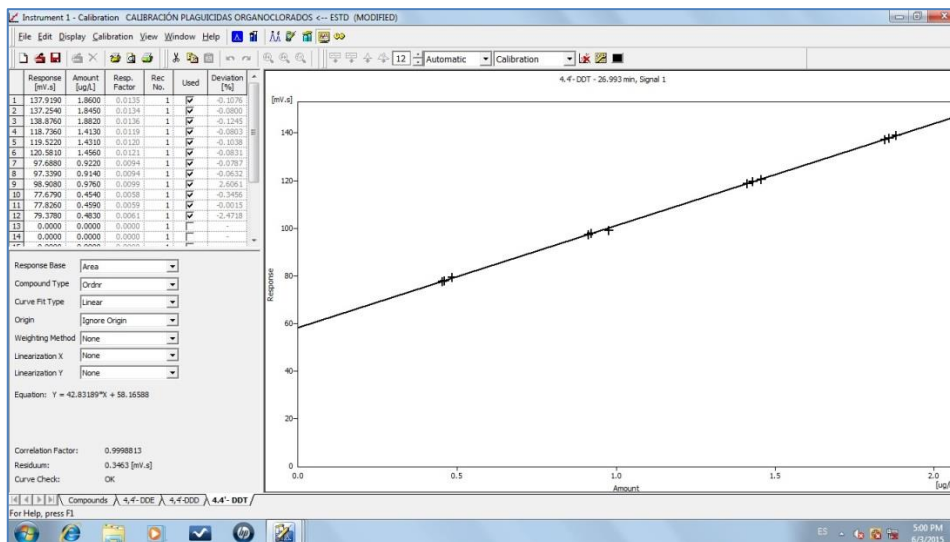


**Figura 59.** Curva de calibración para el 4.4'-DDD (promedio).  
(Aguirre, 2015)

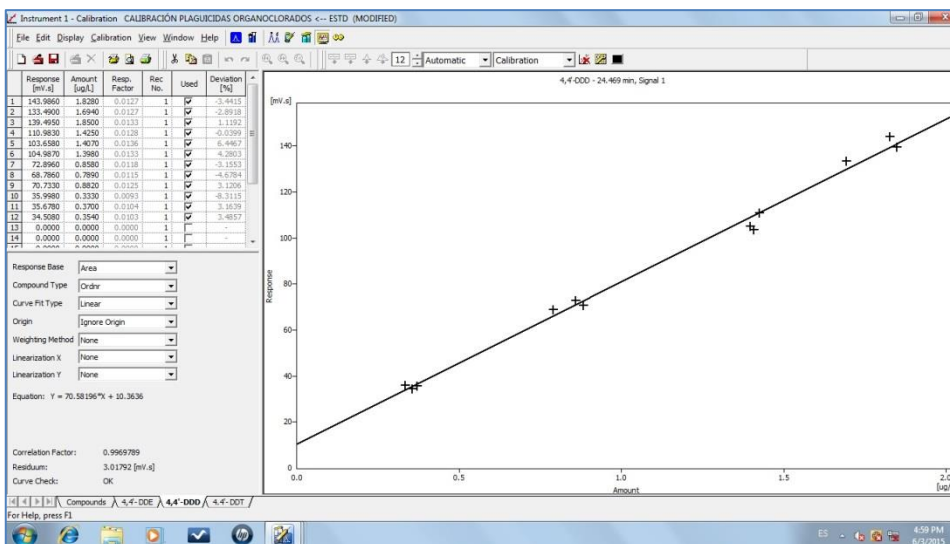


**Figura 60.** Curva de calibración para el 4.4'-DDE (promedio).  
(Aguirre, 2015)

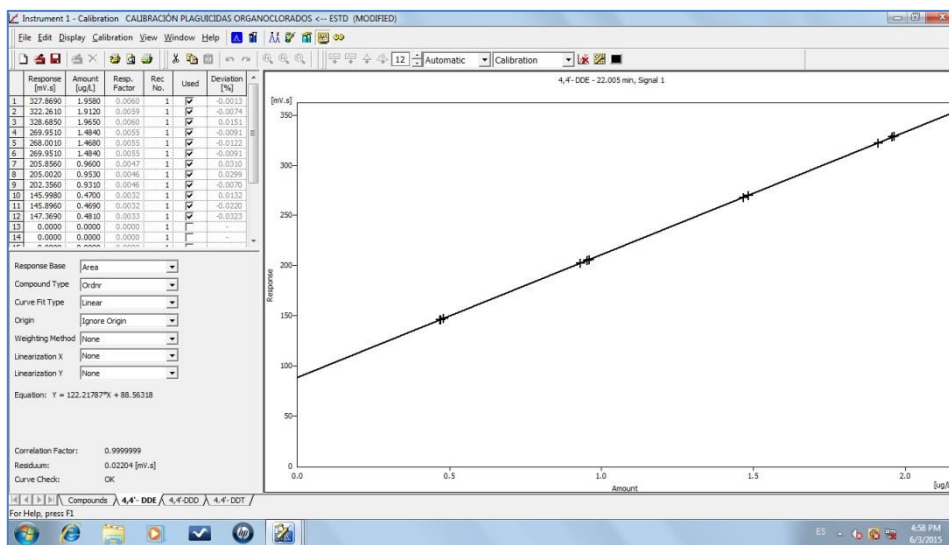
El los gráficos 14, 15 y 16 respectivamente se encuentran las curvas de calibración en el equipo:



**Gráfico 17.** Curva de calibración para el 4.4'-DDT (equipo). (Anexo D).  
(Aguirre, 2015)



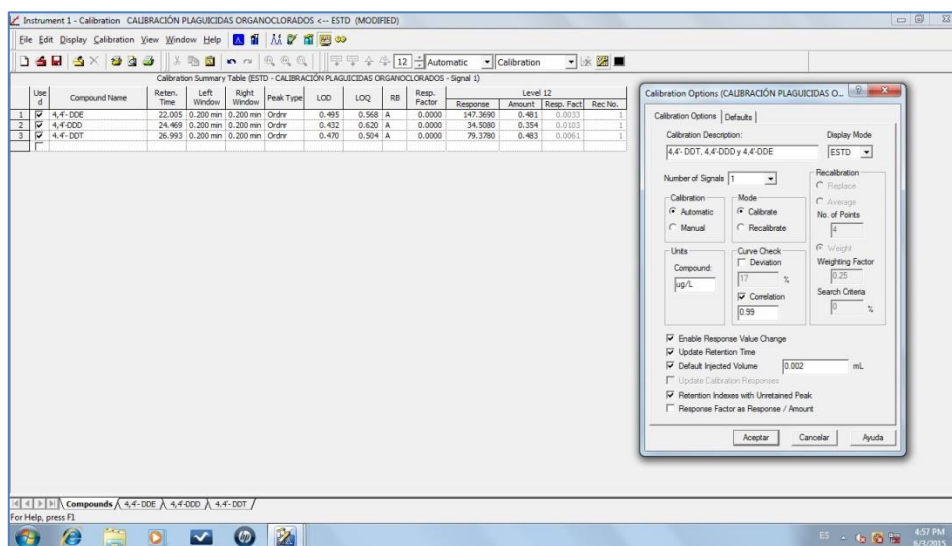
**Gráfico 18.** Curva de calibración para el 4.4'-DDD (equipo). (Anexo D).  
(Aguirre, 2015)



**Gráfico 19.** Curva de calibración para el 4.4'-DDE (equipo). (Anexo D).  
(Aguirre, 2015)

### 4.3 LÍMITES.

Los límites de detección y cuantificación se determinaron con la concentración más baja de los estándares.



**Gráfico 20.** Límites de detección y cuantificación 4.4'-DDT, 4.4'-DDD y 4.4'-DDE (equipo).  
(Anexo D).

(Aguirre, 2015)

### 4.3.1 LÍMITES DE DETECCIÓN (LD).

Se define como la menor concentración de un analito que puede ser detectada pero no necesariamente cuantificada, a un dado nivel de confianza (generalmente 95%), aplicando un determinado método de análisis. Los límites de detección de los estándares de plaguicidas organoclorados 4'4 – DDT, 4'4 – DDD y 4'4 – DDE se encuentran en las tablas 9, 10 y 11 respectivamente.

**Tabla 9.** Límite de Detección (LD) del 4.4'-DDT.

	<b>DÍA 1</b> <b>ug/l</b>	<b>DÍA 2</b> <b>ug/l</b>	<b>DÍA 3</b> <b>ug/l</b>
	0,474	0,459	0,404
	0,414	0,463	0,433
	0,478	0,439	0,483
	0,455	0,483	0,486
<b>PROMEDIO</b>	0,455	0,461	0,451
<b>X</b>	0,456		
<b>S</b>	0,005		
<b>LD</b>	<b>0,470</b>		

**Tabla 10.** Límite de Detección (LD) del 4.4'-DDD.

	<b>DÍA 1</b> <b>ug/l</b>	<b>DÍA 2</b> <b>ug/l</b>	<b>DÍA 3</b> <b>ug/l</b>
	0,371	0,385	0,354
	0,332	0,266	0,276
	0,370	0,333	0,318
	0,437	0,426	0,347
<b>PROMEDIO</b>	0,377	0,352	0,324
<b>X</b>	0,351		
<b>S</b>	0,027		
<b>LD</b>	<b>0,432</b>		

**Tabla 11.** Límite de Detección (LD) del 4.4'-DDE.

	<b>DÍA 1</b> <b>ug/l</b>	<b>DÍA 2</b> <b>ug/l</b>	<b>DÍA 3</b> <b>ug/l</b>
	0,473	0,429	0,422
	0,481	0,451	0,450
	0,493	0,469	0,481
	0,453	0,470	0,489
<b>PROMEDIO</b>	0,475	0,455	0,460
<b>X</b>	0,463		
<b>S</b>	0,010		
<b>LD</b>	<b>0,495</b>		

#### 4.3.2 LÍMITES DE CUANTIFICACIÓN (LC).

El límite de cuantificación considerado como el límite de concentración más bajo para mediciones cuantitativamente precisas. Se define como la cantidad de analito que proporciona una señal igual a la del estándar (0.50 ug/l) más diez veces la desviación estándar del estándar.

Los límites de cuantificación de los estándares de plaguicidas organoclorados 4'4 – DDT, 4'4 – DDD y 4'4 – DDE se encuentran en las tablas 12, 13 y 14 respectivamente.

**Tabla 12.** Límite de Cuantificación (LC) del 4.4'-DDT.

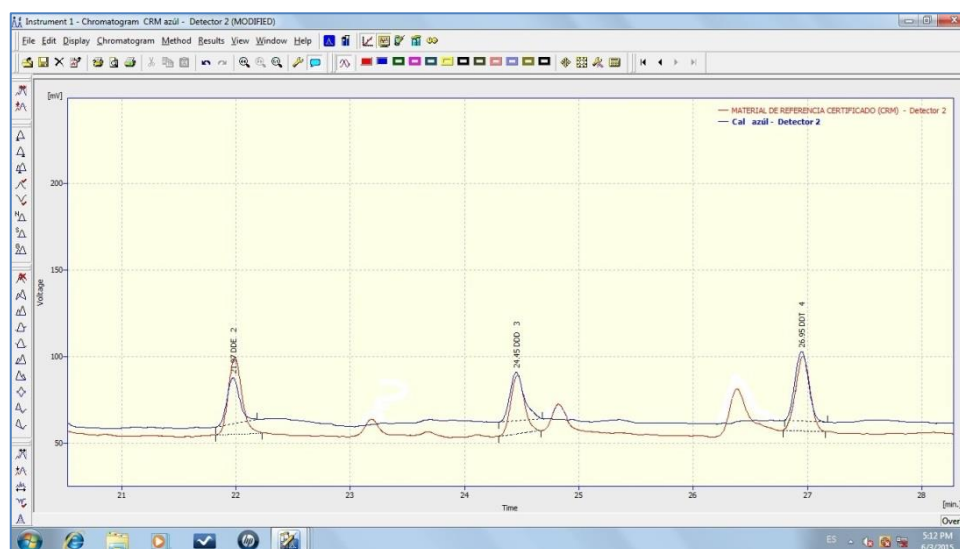
	<b>DÍA 1</b> <b>ug/l</b>	<b>DÍA 2</b> <b>ug/l</b>	<b>DÍA 3</b> <b>ug/l</b>
	0,474	0,459	0,404
	0,414	0,463	0,433
	0,478	0,439	0,483
	0,455	0,483	0,486
<b>PROMEDIO</b>	0,455	0,461	0,451
<b>X</b>	0,456		
<b>S</b>	0,005		
<b>LD</b>	<b>0,504</b>		

**Tabla 13.** Límite de Cuantificación (LC) del 4.4'-DDD.

	<b>DÍA 1</b> <b>ug/l</b>	<b>DÍA 2</b> <b>ug/l</b>	<b>DÍA 3</b> <b>ug/l</b>
	0,371	0,385	0,354
	0,332	0,266	0,276
	0,370	0,333	0,318
	0,437	0,426	0,347
<b>PROMEDIO</b>	0,377	0,353	0,324
<b>X</b>	0,351		
<b>S</b>	0,027		
<b>LD</b>	<b>0,520</b>		

**Tabla 14.** Límite de Cuantificación (LC) del 4.4'-DDE.

	<b>DÍA 1</b> <b>ug/l</b>	<b>DÍA 2</b> <b>ug/l</b>	<b>DÍA 3</b> <b>ug/l</b>
	0,473	0,429	0,422
	0,481	0,451	0,45
	0,493	0,469	0,481
	0,453	0,470	0,489
<b>PROMEDIO</b>	0,475	0,455	0,461
<b>X</b>	0,463		
<b>S</b>	0,010		
<b>LD</b>	<b>0,568</b>		

**Gráfico 21.** Cuantificación 4.4'-DDT, 4.4'-DDD, 4.4'-DDE y CRM (equipo). (Anexo D). (Aguirre, 2015)

## 4.4 LINEALIDAD Y SENSIBILIDAD

### 4.4.1 LINEALIDAD.

(Tafur, 2014) El criterio de aceptación cuantitativo que se usa para determinar la linealidad es el coeficiente de correlación.

El coeficiente de correlación indica el grado de relación entre la variable concentración (X) y la variable área (Y) de la curva de calibración. Los valores máximos que puede alcanzar son 1.

En la práctica si  $r$  tiene un valor cercano a uno (1), esto significa que existe correlación con una probabilidad elevada. Para una curva de calibración o trabajo, es recomendable que el coeficiente de correlación obtenido sea mayor o igual a 0.999, aunque para el caso de trazas se admite un valor igual o mayor que 0.99.

### 4.4.2 SENSIBILIDAD.

Según (IUPAC, 2010) la sensibilidad “se define como el cociente entre la señal medida y la concentración de analito. Cuando trabajamos con curvas de calibrado, la sensibilidad es la pendiente de la curva a una concentración dada. y la reproducibilidad o precisión del análisis”

Como ya se mencionó con anterioridad, para demostrar la linealidad se requieren cumplir ciertos criterios de aceptación en la que estadísticamente se puede justificar esa linealidad; para ello es necesario calcular, la pendiente (m), el intercepto (b) y el coeficiente de determinación ( $r^2$ )

El coeficiente de correlación de las curvas del 4,4'-DDT de los 3 días son cercanos a 1, pero se tomó como referencia para los cálculos las curva del mejor día (día 1) con un coeficiente de correlación y determinación de 0,9998 y 0,9997 respectivamente. Los resultados de pendiente e intercepto son de 39,915 y 58,166 respectivamente.

Los resultados de las pendientes, intercepto y el coeficiente de determinación se encuentran en la tabla 18, calculando la media de todos los coeficientes de determinación con sus desviaciones promedio y la media de la pendiente máxima y mínima, obtenidos de las tablas 15,16 y 17 de los 3 días. Tabla 19 resumen de la mejor curva del día 1.

**Tabla 15.** Linealidad Datos Día 1 del 4.4'-DDT.

No	Concentración ug/l	Lectura Área	Lectura corregida Área	d	d2	dx	dx2	x2
1	0,50	77,679	78,123	-0,444	0,19743211	-1,000	1,00	0,25
2	1,00	97,688	98,081	-0,393	0,15431803	-0,500	0,25	1,00
3	1,50	118,736	118,038	0,698	0,48673878	0,000	0,00	2,25
4	2,00	137,919	137,996	-0,077	0,00590336	0,500	0,25	4,00
				suma	0,84439228	suma	1,50	7,50

**Tabla 16.** Linealidad Datos Día 2 del 4.4'-DDT.

No	Concentración ug/l	Lectura Área	Lectura corregida Área	d	d2	dx	dx2	x2
1	0,50	77,826	77,915	-0,089	0,00795664	-0,750	0,5625	0,25
2	1,00	97,339	97,962	-0,623	0,38800441	-0,250	0,0625	1,00
3	1,50	119,522	118,009	1,513	2,29037956	0,250	0,0625	2,25
4	2,00	137,254	138,055	-0,801	0,64208169	0,750	0,5625	4,00
				suma	3,3284223	suma	1,25	7,50

**Tabla 17.** Linealidad Datos Día 3 del 4.4'-DDT.

No	Concentración ug/l	Lectura Área	Lectura corregida Área	d	d2	dx	dx2	x2
1	0,50	79,378	79,411	-0,033	0,00106929	-0,750	0,5625	0,25
2	1,00	98,908	99,427	-0,519	0,26977636	-0,250	0,0625	1,00
3	1,50	120,581	119,444	1,137	1,29254161	0,250	0,0625	2,25
4	2,00	138,876	139,461	-0,585	0,34199104	0,750	0,5625	4,00
				suma	1,9053783	suma	1,25	7,5

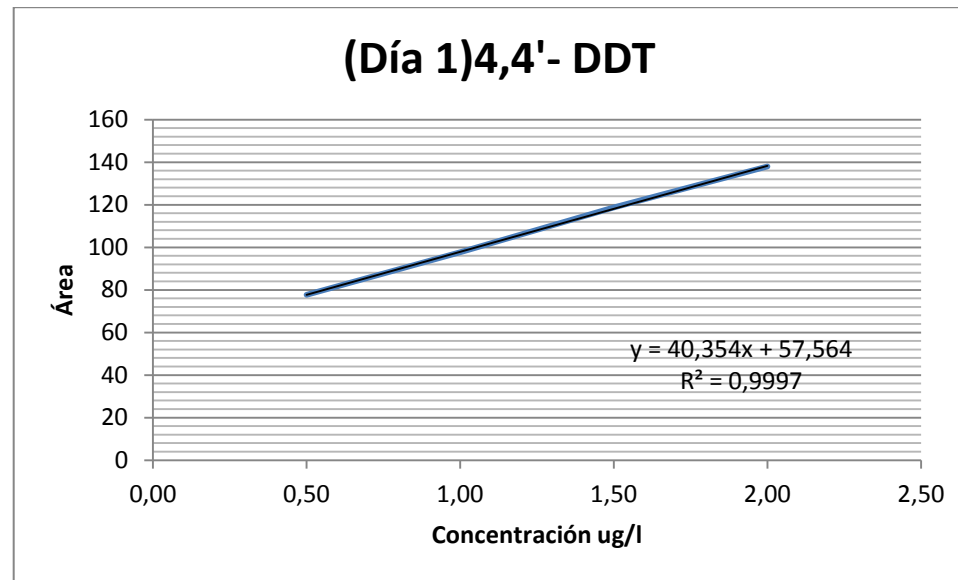
**Tabla 18.** Linealidad pendientes, intercepto y el coeficiente de determinación 4.4'-DDT.

N°	m	N°	b	N°	r <sup>2</sup>
1	39,915	1	58,166	1	0,999
2	40,093	2	57,869	2	0,998
3	40,941	3	57,810	3	0,999
PROMEDIO	40,316	PROMEDIO	57,948	PROMEDIO	0,999
DESVEST	0,548	DESVEST	0,191	DESVEST	0,0007
m MAX	41,138	b MAX	58,234	r <sup>2</sup> MAX	1,000
m MIN	39,494	b MIN	57,662	r <sup>2</sup> MIN	0,998



**Tabla 19.** Linealidad resumen de la mejor curva (Día 1) 4.4'-DDT.

Parámetros	Coefficiente de correlación	Coefficiente de determinación	Pendiente	Pendiente mínima	Pendiente máxima	Intercepto	Intercepto mínimo	Intercepto máximo
Técnico	r	r <sup>2</sup>	m	mmin	mmax	b	bmin	bmax
Aguirre, P.	0,9998	0,9997	39,915	39,494	41,138	58,166	57,662	58,234

**Figura 61.** Mejor curva Día 1 del 4.4'-DDT.  
(Aguirre, 2015)

El coeficiente de correlación de las curvas del 4,4'-DDD los 3 días son cercanos a 1, pero se tomó como referencia para los cálculos la curva del mejor día (día 3) con un coeficiente de correlación y determinación de 0,9999 y 0,9998 respectivamente. Los resultados de pendiente e intercepto son de 69,843 y 0,127 respectivamente.

Los resultados de las pendientes, intercepto y el coeficiente de determinación se encuentran en la tabla 23, calculando la media de todos los coeficientes de determinación con sus desviaciones promedio y la media de la pendiente máxima y mínima, obtenidos de las tablas 20,21 y 22 de los 3 días. Tabla 24 resumen de la mejor curva del día 1.

**Tabla 20.** Linealidad Datos Día 1 del 4.4'-DDD.

No	Concentración ug/l	Lectura Área	Lectura corregida Área	d	d2	dx	dx2	x2
1	0,50	35,998	36,658	-0,660	0,43573201	-0,750	0,5625	0,25
2	1,00	72,896	72,863	0,033	0,00107584	-0,250	0,0625	1,00
3	1,50	110,983	109,068	1,915	3,66607609	0,250	0,0625	2,25
4	2,00	143,986	145,273	-1,287	1,65739876	0,750	0,5625	4,00
				suma	5,7602827	suma	1,25	7,50

**Tabla 21.** Linealidad Datos Día 2 del 4.4'-DDD.

No	Concentración ug/l	Lectura Área	Lectura corregida Área	d	d2	dx	dx2	x2
1	0,50	35,678	36,157	-0,479	0,22924944	-0,750	0,5625	0,25
2	1,00	68,786	68,988	-0,202	0,04064256	-0,250	0,0625	1,00
3	1,50	103,658	101,818	1,840	3,38412816	0,250	0,0625	2,25
4	2,00	133,49	134,649	-1,159	1,34374464	0,750	0,5625	4,00
				suma	4,9977648	suma	1,25	7,50

**Tabla 22.** Linealidad Datos Día 3 del 4.4'-DDD.

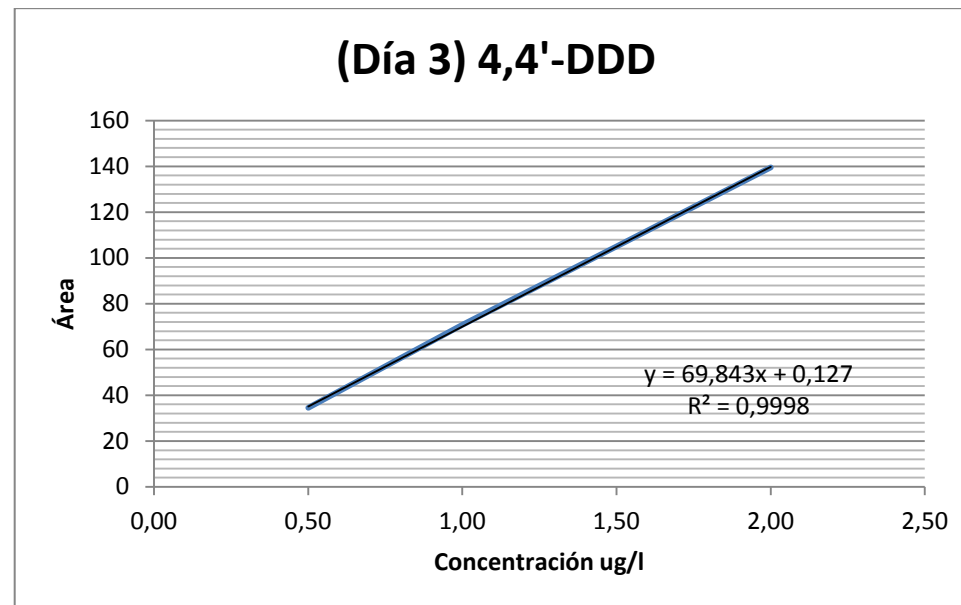
No	Concentración ug/l	Lectura Área	Lectura corregida Área	d	d2	dx	dx2	x2
1	0,50	34,508	35,049	-0,541	0,29214025	-0,750	0,5625	0,25
2	1,00	70,733	69,970	0,763	0,582169	-0,250	0,0625	1,00
3	1,50	104,987	104,892	0,095	0,00912025	0,250	0,0625	2,25
4	2,00	139,495	139,813	-0,318	0,101124	0,750	0,5625	4,00
				suma	0,9845535	suma	1,25	7,50

**Tabla 23.** Linealidad pendientes, intercepto y el coeficiente de determinación 4.4'-DDD.

<b>N°</b>	<b>m</b>	<b>N°</b>	<b>b</b>	<b>N°</b>	<b>r<sup>2</sup></b>
1	72,410	1	0,453	1	0,999
2	65,662	2	3,326	2	0,999
3	69,843	3	0,127	3	0,999
PROMEDIO	69,305	PROMEDIO	1,302	PROMEDIO	0,999
DESVEST	3,406	DESVEST	1,760	DESVEST	0,000
m MAX	74,414	b MAX	3,943	r <sup>2</sup> MAX	0,999
m MIN	64,195	b MIN	-1,339	r <sup>2</sup> MIN	0,998

**Tabla 24.** Linealidad resumen de la mejor curva (Día 3) 4.4'-DDD.

Parámetros	Coefficiente de correlación	Coefficiente de determinación	Pendiente	Pendiente mínima	Pendiente máxima	Intercepto	Intercepto mínimo	Intercepto máximo
Técnico	r	r <sup>2</sup>	m	mmin	mmax	b	bmin	bmax
Aguirre P.	0,9999	0,9998	69,843	64,195	74,414	0,127	-1,339	3,943



**Figura 62.** Mejor curva Día 3 del 4.4'-DDD.  
(Aguirre, 2015)

El coeficiente de correlación de las curvas del 4,4'-DDE los 3 días son cercanos a 1, pero se tomó como referencia para los cálculos la curva del mejor día (día 1) con un coeficiente de correlación y determinación de 0,99985 y 0,9997 respectivamente. Los resultados de pendiente e intercepto son de 121,942 y 84,992 respectivamente.

Los resultados de las pendientes, intercepto y el coeficiente de determinación se encuentran en la tabla 28, calculando la media de todos los coeficientes de determinación con sus desviaciones promedio y la media de la pendiente máxima y mínima, obtenidos de las tablas 25, 26 y 27 de los 3 días. Tabla 29 resumen de la mejor curva del día 1.

**Tabla 25.** Linealidad Datos Día 1 del 4.4'-DDE.

No	Concentración ug/l	Lectura Área	Lectura corregida Área	d	d2	dx	dx2	x2
1	0,50	145,998	145,962	0,036	0,00127449	-0,750	0,5625	0,25
2	1,00	205,856	206,933	-1,077	1,16014441	-0,250	0,0625	1,00
3	1,50	269,951	267,904	2,047	4,19061841	0,250	0,0625	2,25
4	2,00	327,869	328,875	-1,006	1,01143249	0,750	0,5625	4,00
				suma	6,3634698	suma	1,25	7,50

**Tabla 26.** Linealidad Datos Día 2 del 4.4'-DDE.

No	Concentración ug/l	Lectura Área	Lectura corregida Área	d	d2	dx	dx2	x2
1	0,50	145,896	145,896	0,000	0	-0,375	0,14052876	0,25
2	1,00	205,002	205,002	0,000	0	0,125	0,0156571	1,00
3	1,50	268,001	264,108	3,893	15,155449	0,625	0,39078545	2,25
4	2,00	322,261	323,214	-0,953	0,908209	1,125	1,26591379	4,00
				suma	16,063658	suma	1,8128851	7,50

**Tabla 27.** Linealidad Datos Día 3 del 4.4'-DDE.

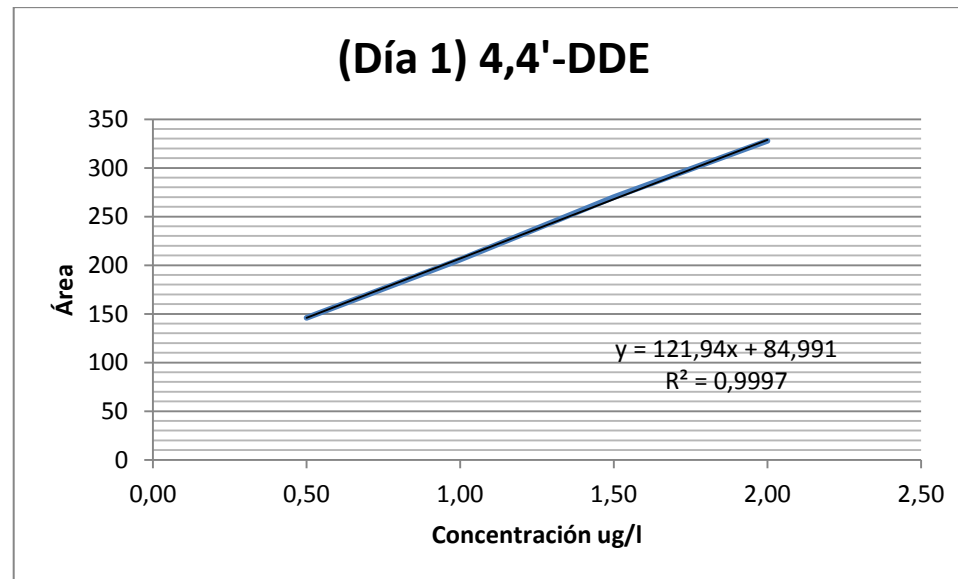
No	Concentración ug/l	Lectura Área	Lectura corregida Área	d	d2	dx	dx2	x2
1	0,50	147,369	147,369	0,000	0	-0,375	0,14040304	0,25
2	1,00	202,365	202,365	0,000	0	0,125	0,0156991	1,00
3	1,50	269,951	257,361	12,590	158,5081	0,625	0,39099517	2,25
4	2,00	328,685	312,357	16,328	266,603584	1,125	1,26629124	4,00
				suma	425,111684	suma	1,81338856	7,50

**Tabla 28.** Linealidad pendientes, intercepto y el coeficiente de determinación 4.4'-DDE.

<b>N°</b>	<b>m</b>	<b>N°</b>	<b>b</b>	<b>N°</b>	<b>r<sup>2</sup></b>
1	121,942	1	84,992	1	0,999
2	118,419	2	87,267	2	0,999
3	122,307	3	84,209	3	0,998
PROMEDIO	120,889	PROMEDIO	85,489	PROMEDIO	0,999
DESVEST	2,147	DESVEST	1,588	DESVEST	0,0006
m MAX	124,110	b MAX	87,871	r <sup>2</sup> MAX	1,000
m MIN	117,668	b MIN	83,107	r <sup>2</sup> MIN	0,998

**Tabla 29.** Linealidad resumen de la mejor curva (Día 1) 4.4'-DDE.

Parámetros	Coefficiente de correlación	Coefficiente de determinación	Pendiente	Pendiente mínima	Pendiente máxima	Intercepto	Intercepto mínimo	Intercepto máximo
Técnico	r	r <sup>2</sup>	m	mmin	mmax	b	bmin	bmax
Aguirre, P.	0,99985	0,9997	121,942	117,668	124,11	84,992	83,107	87,871



**Figura 63.** Mejor curva Día 1 del 4.4'-DDE  
(Aguirre, 2015)

## 4.5 PRECISIÓN

(Codex Alimentarius, 2010) Refleja la medida en que los valores de una serie repetida de ensayos analíticos que se realizan sobre una muestra son semejantes entre sí. La precisión podrá establecerse en términos de repetibilidad y reproducibilidad. Generalmente, la precisión de un método se expresa en términos de desviación estándar (SD) o desviación estándar relativa en porcentaje % (coeficiente de variación, (RSD)).

Coefficientes de variación máximos (CV<sub>máx</sub>) de aceptación en dependencia del por ciento del analito en la muestra, según las teorías de Izaak Kolthoff (Padre de Química Analítica). Los valores del CV deben ser menores al 10%. (Castillo & González, 1995)

### 4.5.1 REPETIBILIDAD.

(Toasa, 2012) Afirma que “repetibilidad es la cercanía entre sí de las medidas obtenidas con el mismo método, sobre idéntico material o muestra, en las mismas condiciones (operador, laboratorio, instrumentación.) y en un intervalo de tiempo pequeño, y puede medirse solamente dentro del laboratorio.” Se tomó datos tomados el mismo día con el mismo equipamiento, mismo laboratorio, mismos reactivos, mismo analista pero en diferentes intervalos de tiempo al transcurso del día.

Se tomaron datos de todas las concentraciones del 4.4'-DDT, 4.4'-DDD y 4.4'-DDE, para determinar la desviación estándar, la media y el coeficiente de variación porcentual (%CV).

Con las desviaciones estándar se realiza una comparación del punto 1 (0,50 ug/l) con el punto 2 (1,00 ug/l), del punto 2 (1,00 ug/l) con el punto 3 (1,50 ug/l), del punto 3 (1,50 ug/l), con el punto 4 (2,00 ug/l), y la última de los 4 puntos.

Los resultados de repetibilidad de cada uno de los estándares se presentan a continuación:

- Los resultados del 4.4'-DDT son: %CV para 0,50 ug/l= 2,21; para 1,00 ug/l= 2,23; para 1,50 ug/l=1,23 y para 2,00 ug/l= 1,72 (tablas 30, 31, 32 y 33).



**Tabla 30.** %CVr de concentración 0,50 ug/l del 4.4'-DDT.

<b>Repeticiones</b>	<b>Muestra (ug/l)</b>	<b>Lectura (área)</b>	<b>Resultado (ug/l)</b>
1	0,50	77,826	0,600
2	0,50	78,009	0,604
3	0,50	76,998	0,586
4	0,50	78,889	0,619
		<b>X</b>	0,603
		<b>S</b>	0,013
		<b>%CVr</b>	<b>2,21</b>

**Tabla 31.** %CVr de concentración 1,00 ug/l del 4.4'-DDT.

<b>Repeticiones</b>	<b>Muestra (ug/l)</b>	<b>Lectura (área)</b>	<b>Resultado (ug/l)</b>
1	1,00	95,688	0,907
2	1,00	97,688	0,942
3	1,00	96,309	0,918
4	1,00	98,309	0,953
		<b>X</b>	0,930
		<b>S</b>	0,021
		<b>%CVr</b>	<b>2,23</b>

**Tabla 32.** %CVr de concentración 1,50 ug/l del 4.4'-DDT.

<b>Repeticiones</b>	<b>Muestra (ug/l)</b>	<b>Lectura (área)</b>	<b>Resultado (ug/l)</b>
1	1,50	118,989	1,308
2	1,50	118,567	1,301
3	1,50	118,983	1,308
4	1,50	120,678	1,337
		<b>X</b>	1,314
		<b>S</b>	0,016
		<b>%CVr</b>	<b>1,23</b>

**Tabla 33.** %CVr de concentración 2,00 ug/l del 4.4'-DDT.

Repeticiones	Muestra (ug/l)	Lectura (área)	Resultado (ug/l)
1	2,00	139,441	1,660
2	2,00	137,254	1,622
3	2,00	136,742	1,613
4	2,00	135,568	1,593
		<b>X</b>	1,623
		<b>S</b>	0,028
		<b>%CVr</b>	<b>1,72</b>

Se calculó la prueba F con los valores máximos y mínimos de las desviaciones de estándar de las comparaciones realizadas entre los puntos (tabla 34). Se acepta la hipótesis nula para todos los puntos según la prueba de F.

**Tabla 34.** Repetibilidad Datos de prueba de Fisher al 95% de confianza del 4.4'-DDT.

	x	S	S max	S min	F calculada	F tabulada	Hipótesis
<b>Punto 1</b>	0,603	0,013	0,021	0,013	2,43	9,277	Ho
<b>Punto 2</b>	0,930	0,021	0,021	0,016	1,665	9,277	Ho
<b>Punto 3</b>	1,314	0,016	0,028	0,016	3,00	9,277	Ho
<b>Punto 4</b>	1,623	0,028	0,028	0,016	3,00	9,277	Ho

$$H_0 = s_1^2/s^2 < F_{tab}$$

$$H_i = s_1^2/s^2 > F_{tab}$$

	<b>%CVr</b>
Punto 1	2,21
Punto 2	2,23
Punto 3	1,23
Punto 4	1,72
<b>Promedio</b>	<b>1,85</b>

- Los resultados del 4.4'-DDD son: %CV para 0,50 ug/l = 8,66; para 1,00 ug/l = 9,87; para 1,50 ug/l = 8,07 y para 2,00 ug/l = 4,14 (tablas 35, 36, 37 y 38).

**Tabla 35.** %CVr de concentración 0,50 ug/l del 4.4'-DDD.

Repeticiones	Muestra (ug/l)	Lectura (área)	Resultado (ug/l)
1	0,50	28,508	0,403
2	0,50	28,725	0,406
3	0,50	31,889	0,451
4	0,50	33,998	0,482
		<b>X</b>	0,436
		<b>S</b>	0,038
		<b>%CVr</b>	<b>8,66</b>

**Tabla 36.** %CVr de concentración 1,00 ug/l del 4.4'-DDD.

Repeticiones	Muestra (ug/l)	Lectura (área)	Resultado (ug/l)
1	1,00	61,761	0,878
2	1,00	73,733	1,049
3	1,00	72,622	1,033
4	1,00	78,436	1,116
		<b>X</b>	1,019
		<b>S</b>	0,101
		<b>%CVr</b>	<b>9,87</b>

**Tabla 37.** %CVr de concentración 1,50 ug/l del 4.4'-DDD.

Repeticiones	Muestra (ug/l)	Lectura (área)	Resultado (ug/l)
1	1,50	96,296	1,371
2	1,50	111,987	1,595
3	1,50	112,581	1,604
4	1,50	116,001	1,652
		<b>X</b>	1,556
		<b>S</b>	0,126
		<b>%CVr</b>	<b>8,07</b>

**Tabla 38.** %CVr de concentración 2,00 ug/l del 4.4'-DDD.

Repeticiones	Muestra (ug/l)	Lectura (área)	Resultado (ug/l)
1	2,00	132,950	1,894
2	2,00	134,495	1,916
3	2,00	143,25	2,041
4	2,00	143,89	2,051
		<b>X</b>	1,976
		<b>S</b>	0,082
		<b>%CVr</b>	<b>4,14</b>

Se calculó la prueba F con los valores máximos y mínimos de las desviaciones de estándar de las comparaciones realizadas entre los puntos (tabla 39). Se acepta la hipótesis nula para los puntos 1, 2 y 4 según la prueba de F.

**Tabla 39.** Repetibilidad Datos de prueba de Fisher al 95% de confianza del 4.4'-DDD.

	x	S	S max	S min	F calculada	F tabulada	Hipótesis
<b>Punto 1</b>	0,436	0,038	0,101	0,038	7,11	9,277	Ho
<b>Punto 2</b>	1,019	0,101	0,126	0,101	1,556	9,277	Ho
<b>Punto 3</b>	1,556	0,126	0,126	0,038	11,06	9,277	Hi
<b>Punto 4</b>	1,976	0,082	0,126	0,082	2,36	9,277	Ho

$$H_o = s_1^2/s^2 < F \text{ tab}$$

$$H_i = s_1^2/s^2 > F \text{ tab}$$

	<b>%CVr</b>
Punto 1	8,66
Punto 2	9,87
Punto 3	8,07
Punto 4	4,14
<b>Promedio</b>	<b>7,68</b>

- Los resultados del 4.4'-DDE son: %CV para 0,50 ug/l = 2,61; para 1,00 ug/l = 3,10; para 1,50 ug/l = 2,98 y para 2,00 ug/l = 2,82 (tablas 40, 41, 42 y 43).

**Tabla 40.** %CVr de concentración 0,50 ug/l del 4.4'-DDE.

Repeticiones	Muestra (ug/l)	Lectura (área)	Resultado (ug/l)
1	0,50	146,432	0,458
2	0,50	147,369	0,466
3	0,50	148,789	0,477
4	0,50	149,963	0,486
		<b>X</b>	0,472
		<b>S</b>	0,012
		<b>%CVr</b>	<b>2,61</b>

**Tabla 41.** %CVr de concentración 1,00 ug/l del 4.4'-DDE.

Repeticiones	Muestra (ug/l)	Lectura (área)	Resultado (ug/l)
1	1,00	199,496	0,879
2	1,00	202,365	0,902
3	1,00	205,369	0,925
4	1,00	207,693	0,944
		<b>X</b>	0,913
		<b>S</b>	0,028
		<b>%CVr</b>	<b>3,10</b>

**Tabla 42.** %CVr de concentración 1,50 ug/L del 4.4'-DDE.

Repeticiones	Muestra (ug/l)	Lectura (área)	Resultado (ug/l)
1	1,50	267,541	1,418
2	1,50	272,965	1,461
3	1,50	276,582	1,490
4	1,50	280,584	1,522
		<b>X</b>	1,473
		<b>S</b>	0,044
		<b>%CVr</b>	<b>2,98</b>

**Tabla 43.** %CVr de concentración 2,00 ug/L del 4.4'-DDE.

Repeticiones	Muestra (ug/l)	Lectura (área)	Resultado (ug/l)
1	2,00	325,671	1,879
2	2,00	331,743	1,927
3	2,00	338,661	1,982
4	2,00	340,947	2,000
		<b>X</b>	1,948
		<b>S</b>	0,055
		<b>%CVr</b>	<b>2,82</b>

Se calculó la prueba F con los valores máximos y mínimos de las desviaciones de estándar de las comparaciones realizadas entre los puntos (tabla 44). Se acepta la hipótesis nula para los puntos 1, 2 y 3 según la prueba de F.

**Tabla 44.** Repetibilidad Datos de prueba de Fisher al 95% de confianza del 4.4'-DDE.

	x	S	S max	S min	F calculada	F tabulada	Hipótesis
<b>Punto 1</b>	0,472	0,012	0,028	0,012	5,26	9,277	Ho
<b>Punto 2</b>	0,913	0,028	0,044	0,028	2,412	9,277	Ho
<b>Punto 3</b>	1,473	0,044	0,055	0,055	1,00	9,277	Ho
<b>Punto 4</b>	1,948	0,055	0,055	0,012	19,87	9,277	Hi

$$H_0 = s_1^2/s^2 < F_{\text{tab}}$$

$$H_i = s_1^2/s^2 > F_{\text{tab}}$$

	<b>%CVr</b>
Punto 1	2,61
Punto 2	3,10
Punto 3	2,98
Punto 4	2,82
<b>Promedio</b>	<b>2,88</b>

#### 4.5.2 REPRODUCIBILIDAD.

(Tafur, 2014) Afirma que “reproducibilidad es la precisión bajo las condiciones de reproducibilidad, es decir, condiciones donde los resultados de los análisis se obtienen con el mismo método en ítem idénticos de análisis en condiciones diferentes ya sea de laboratorio, diferentes operadores, usando distintos equipos, entre otros.

En este caso es el mismo equipamiento, reactivos y analista pero en días diferentes de experimentación.

Se realizó los mismos cálculos que la repetibilidad del 4.4'-DDT, 4.4'-DDD y 4.4'-DDE, se tomaron todos los datos de la concentración, para determinar la desviación estándar (SRi), la media (x) y el porcentaje de coeficiente de variación (%CVRi).

Con las desviaciones estándar se realiza una comparación. Se calculó la prueba F con los valores máximos y mínimos de las desviaciones de estándar de las comparaciones realizadas entre los puntos.

- . Los resultados del 4.4'-DDT son %CVRi para 0,50 ug/l = 2,37; para 1,00 ug/l = 1,31; para 1,50 ug/l= 1,45 y para 2,00 ug/l= 1,94 (tablas 45, 46, 47, 48).

**Tabla 45.** %CVRi de concentración 0,50 ug/l del 4.4'-DDT.

Repeticiones	Muestra (ug/l)	Lectura (área)	Resultado (ug/l)
1	0,50	78,508	0,658
2	0,50	78,998	0,666
3	0,50	76,998	0,631
4	0,50	77,679	0,643
		<b>X</b>	0,650
		<b>S</b>	0,015
		<b>%CVRi</b>	<b>2,37</b>

**Tabla 46.** %CV<sub>Ri</sub> de concentración 1,00 ug/l del 4.4'-DDT.

Repeticiones	Muestra (ug/l)	Lectura (área)	Resultado (ug/l)
1	1,00	98,478	1,005
2	1,00	98,309	1,002
3	1,00	99,998	1,032
4	1,00	99,087	1,016
		<b>X</b>	1,014
		<b>S</b>	0,013
		<b>%CV<sub>Ri</sub></b>	<b>1,31</b>

**Tabla 47.** %CV<sub>Ri</sub> de concentración 1,50 ug/l del 4.4'-DDT.

Repeticiones	Muestra (ug/l)	Lectura (área)	Resultado (ug/l)
1	1,50	120,689	1,392
2	1,50	118,736	1,358
3	1,50	120,581	1,390
4	1,50	118,567	1,355
		<b>X</b>	1,374
		<b>S</b>	0,020
		<b>%CV<sub>Ri</sub></b>	<b>1,45</b>

**Tabla 48.** %CV<sub>Ri</sub> de concentración 2,00 ug/l del 4.4'-DDT.

Repeticiones	Muestra (ug/l)	Lectura (área)	Resultado (ug/l)
1	2,00	138,876	1,708
2	2,00	137,254	1,680
3	2,00	139,696	1,723
4	2,00	135,441	1,649
		<b>X</b>	1,691
		<b>S</b>	0,033
		<b>%CV<sub>Ri</sub></b>	<b>1,94</b>



Se acepta la hipótesis nula para todos los puntos, según la prueba de F (tabla 49).

**Tabla 49.** Reproducibilidad Datos de prueba de Fisher al 95% de confianza del 4.4'-DDT.

	<b>X</b>	<b>S</b>	<b>S max</b>	<b>S min</b>	<b>F calculada</b>	<b>F tabulada</b>	<b>Hipótesis</b>
Punto 1	0,650	0,015	0,015	0,013	1,34	9,277	Ho
Punto 2	1,014	0,013	0,020	0,020	1,00	9,277	Ho
Punto 3	1,374	0,020	0,028	0,028	1,00	9,277	Ho
Punto 4	1,681	0,028	0,028	0,013	4,51	9,277	Ho

$$H_0 = s_1^2/s^2 < F_{\text{tab}}$$

$$H_1 = s_1^2/s^2 > F_{\text{tab}}$$

	<b>%CV<sub>Ri</sub></b>
Punto 1	2,37
Punto 2	1,31
Punto 3	1,45
Punto 4	1,94
<b>Promedio</b>	<b>1,77</b>

- Los resultados del 4.4'-DDD son %CV<sub>Ri</sub> para 0,50 ug/l = 6,08; para 1,00 ug/l = 2,81; para 1,50 ug/l = 1,59 y para 2,00 ug/l = 1,13 (tablas 50, 51, 52 y 53).

**Tabla 50.** %CV<sub>Ri</sub> de concentración 0,50 ug/l del 4.4'-DDD.

Repeticiones	Muestra (ug/l)	Lectura (área)	Resultado (ug/l)
1	0,50	35,765	0,507
2	0,50	39,889	0,566
3	0,50	36,826	0,522
4	0,50	40,679	0,577
		<b>X</b>	0,555
		<b>S</b>	0,034
		<b>%CV<sub>Ri</sub></b>	<b>6,08</b>

**Tabla 51.** %CV<sub>Ri</sub> de concentración 1,00 ug/l del 4.4'-DDD.

Repeticiones	Muestra (ug/l)	Lectura (área)	Resultado (ug/l)
1	1,00	75,765	1,078
2	1,00	73,733	1,049
3	1,00	77,897	1,108
4	1,00	78,436	1,116
		<b>X</b>	1,092
		<b>S</b>	0,031
		<b>%CV<sub>Ri</sub></b>	<b>2,81</b>

**Tabla 52.** %CV<sub>Ri</sub> de concentración 1,50 ug/l del 4.4'-DDD.

Repeticiones	Muestra (ug/l)	Lectura (área)	Resultado (ug/l)
1	1,50	115,736	1,649
2	1,50	116,678	1,662
3	1,50	112,581	1,604
4	1,50	116,001	1,652
		<b>X</b>	1,640
		<b>S</b>	0,026
		<b>%CV<sub>Ri</sub></b>	<b>1,59</b>

**Tabla 53.** %CVRi de concentración 2,00 ug/l del 4.4'-DDD.

Repeticiones	Muestra (ug/l)	Lectura (área)	Resultado (ug/l)
1	2,00	141,890	2,022
2	2,00	140,246	1,999
3	2,00	143,25	2,041
4	2,00	143,89	2,051
		<b>X</b>	2,031
		<b>S</b>	0,023
		<b>%CVRi</b>	<b>1,13</b>

Se acepta la hipótesis nula para la relación del punto 1 y punto 2 según la prueba de (tabla 54).

**Tabla 54.** Reproducibilidad Datos de prueba de Fisher al 95% de confianza del 4.4'-DDD.

	<b>X</b>	<b>S</b>	<b>S max</b>	<b>S min</b>	<b>F calculada</b>	<b>F tabulada</b>	<b>Hipótesis</b>
Punto 1	0,555	0,034	0,034	0,031	1,21	9,277	Ho
Punto 2	1,092	0,031	0,031	0,026	1,39	9,277	Ho
Punto 3	1,640	0,026	1,135	0,026	19,56	9,277	Hi
Punto 4	2,031	1,135	1,135	0,026	19,56	9,277	Hi

$$H_0 = s_1^2/s_2^2 < F_{tab}$$

$$H_i = s_1^2/s_2^2 > F_{tab}$$

	<b>%CVRi</b>
Punto 1	6,08
Punto 2	2,81
Punto 3	1,59
Punto 4	1,13
<b>Promedio</b>	<b>2,90</b>

- Los resultados del 4.4'-DDE son %CVRi para 0,50 ug/l = 7,89; para 1,00 ug/l = 3,00; para 1,50 ug/l = 1,81 y para 2,00 ug/l = 2,79 (tablas 55, 56, 56 y 57).

**Tabla 55.** %CVRi de concentración 0,50 ug/l del 4.4'-DDE.

Repeticiones	Muestra (ug/l)	Lectura (área)	Resultado (ug/l)
1	0,50	152,998	0,347
2	0,50	153,345	0,351
3	0,50	148,789	0,300
4	0,50	149,963	0,313
		<b>X</b>	0,322
		<b>S</b>	0,025
		<b>%CVRi</b>	<b>7,89</b>

**Tabla 56.** %CVRi de concentración 1,00 ug/l del 4.4'-DDE.

Repeticiones	Muestra (ug/l)	Lectura (área)	Resultado (ug/l)
1	1,00	205,856	0,944
2	1,00	210,838	1,000
3	1,00	205,369	0,938
4	1,00	208,693	0,976
		<b>X</b>	0,965
		<b>S</b>	0,029
		<b>%CVRi</b>	<b>3,00</b>

**Tabla 57.** %CVRi de concentración 1,50 ug/l del 4.4'-DDE.

Repeticiones	Muestra (ug/l)	Lectura (área)	Resultado (ug/l)
1	1,50	274,951	1,724
2	1,50	277,753	1,756
3	1,50	276,582	1,742
4	1,50	281,584	1,799
		<b>X</b>	1,756
		<b>S</b>	0,032
		<b>%CVRi</b>	<b>1,81</b>

**Tabla 58.** %CV<sub>Ri</sub> de concentración 2,00 ug/l del 4.4'-DDE.

Repeticiones	Muestra (ug/l)	Lectura (área)	Resultado (ug/l)
1	2,00	343,947	2,503
2	2,00	341,661	2,477
3	2,00	344,806	2,513
4	2,00	355,685	2,636
		<b>X</b>	2,533
		<b>S</b>	0,071
		<b>%CV<sub>Ri</sub></b>	<b>2,79</b>

Se acepta la hipótesis nula para los puntos 1, 2 y 3 según la prueba de F (tabla 59).

**Tabla 59.** Reproducibilidad Datos de prueba de Fisher al 95% de confianza del 4.4'-DDE.

	<b>X</b>	<b>S</b>	<b>S max</b>	<b>S min</b>	<b>F calculada</b>	<b>F tabulada</b>	<b>Hipótesis</b>
Punto 1	0,322	0,025	0,029	0,025	1,30	9,277	Ho
Punto 2	0,965	0,029	0,032	0,029	1,21	9,277	Ho
Punto 3	1,815	0,032	0,071	0,071	1,00	9,277	Ho
Punto 4	2,533	0,071	0,071	0,029	5,96	9,277	Hi

$$H_0 = s_1^2/s^2 < F_{tab}$$

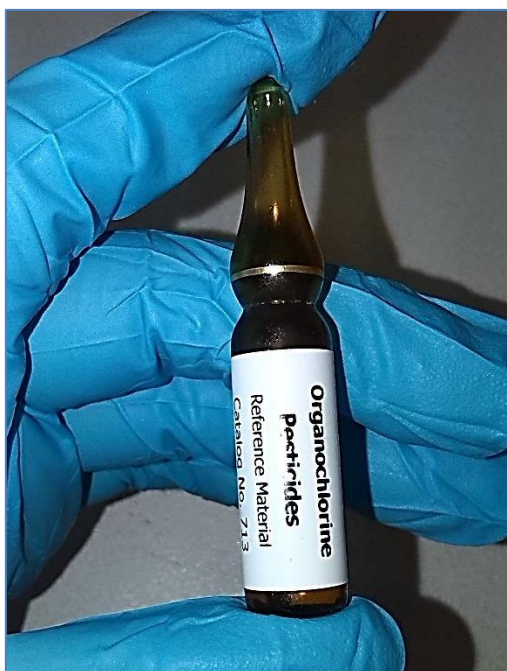
$$H_i = s_1^2/s^2 > F_{tab}$$

	<b>%CV<sub>Ri</sub></b>
Punto 1	7,89
Punto 2	3,00
Punto 3	1,81
Punto 4	2,79
<b>Promedio</b>	<b>3,87</b>

## 4.6 EXACTITUD

Según (Tafur, 2014) “la exactitud se define como el grado de concordancia entre el resultado de un ensayo y el valor de referencia. El término “exactitud” se refiere a una combinación de veracidad y precisión.”

En otras palabras se denomina exactitud a la capacidad de un instrumento de acercarse al valor de la magnitud real. Para esto se utilizó una muestra de referencia de la empresa ERA certificada, número de catálogo 713, lote: 330712, que contiene un mix completo de plaguicidas organoclorados entre ellos el 4,4 - DDT, 4,4 - DDD y el 4,4 – DDE (Anexo B). Para validar la curva de calibración, se debe comprobar que la lectura de área y concentración este cercano a lo certificado.



**Grafico 22.** Ampolla material de referencia certificado (CRM).  
(Aguirre, 2015)

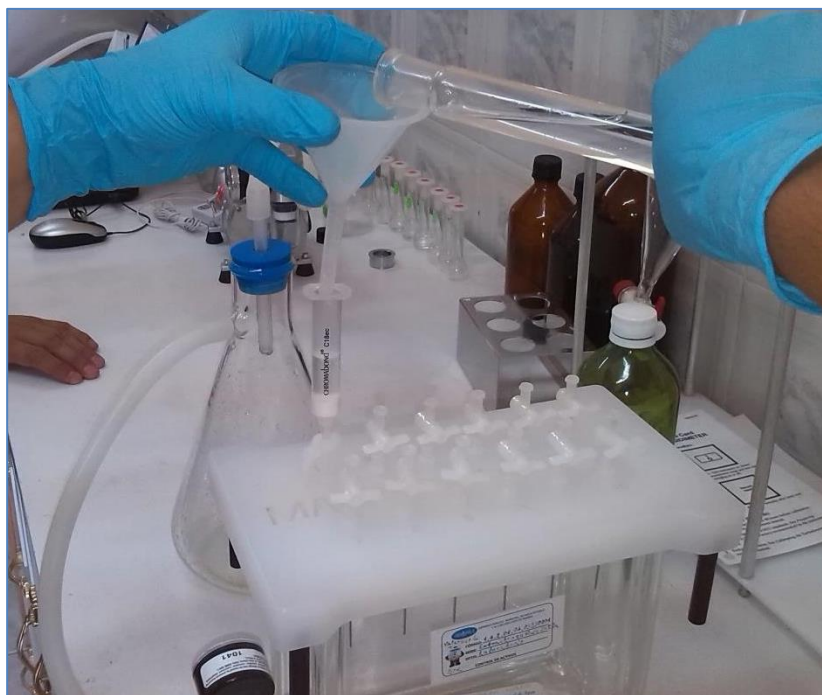
Se preparó el material de referencia certificado (CRM):

- 1 Se añadió 100 a 200 ml. de agua destilada en un matraz aforado de 1000 ml.
- 2 Se transfirió 1,0 ml. del concentrado del material de referencia, en el matraz aforado de 1000 ml.
- 3 Se diluyó en el matraz con agua destilada
- 4 Tape el matraz y mezclar bien.

5 Se realizó la Extracción en Fase Sólida (SPE) y recuperación para analizar las muestras en el cromatógrafo de gases.

#### 4.6.1 PREPARACIÓN DEL MATERIAL DE REFERENCIA CERTIFICADO (CRM) POR EXTRACCIÓN EN FASE SÓLIDA (SPE).

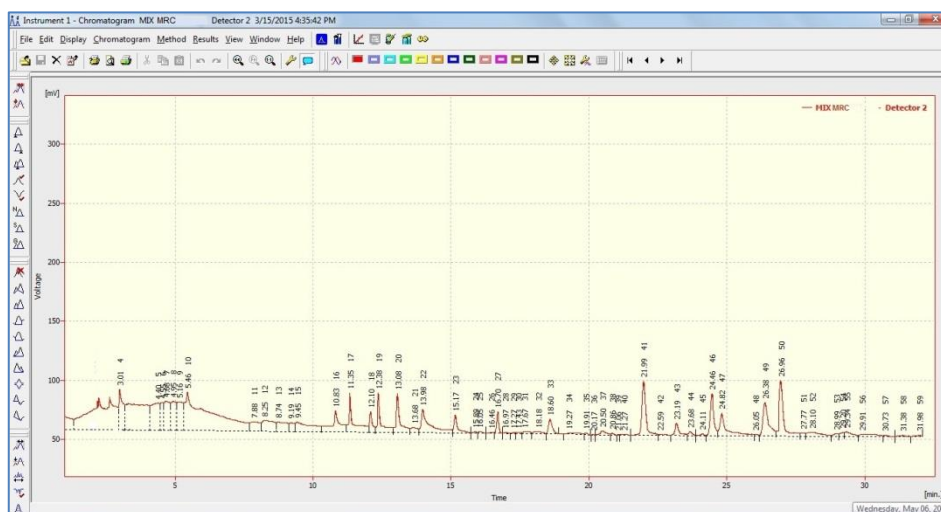
Para la extracción de muestras se utiliza como referencia el método 3535 Extracción en fase sólida (SPE) de la Agencia de Protección Ambiental (EPA).



**Gráfico 23.** Extracción en fase sólida (SPE) del material de referencia certificado (CRM).  
(Aguirre, 2015)

- Se utilizó el matraz aforado de 1000 ml. que contiene el material de referencia certificado (CRM) para la extracción.
- Se hizo pasar 20 ml. de Agua destilada por el cartucho (CHROMAbOND C18 ec) a ser utilizado, se deja una mínima cantidad de agua para que no quede totalmente seco el microfiltro del cartucho).
- Se hizo pasar 20 ml. de Metanol grado pesticida por el cartucho, se deja una mínima cantidad de Metanol para que no quede totalmente seco el microfiltro del cartucho y se deja reposar por 1 min. aproximadamente).
- Se hizo pasar completamente los 1000 ml. que contiene el material de referencia certificado (CRM) por el cartucho y se deja que la bomba de vacío siga por un tiempo de 3 min. aproximadamente hasta lograr secar el microfiltro.

- e) Para la recolección del el analito se colocó un tubo de ensayo bajo el cartucho, (en el tubo de ensayo se coloca 1 a 2 g. de sulfato de sodio para eliminar el agua residual)
  - f) Se hizo pasar 5 ml. de Acetona grado pesticida por el cartucho, se deja una mínima cantidad de Acetona para que no quede totalmente seco el microfiltro del cartucho y se deja reposar por 15 a 20 segundos aproximadamente).
  - g) Se hizo pasar completamente 15 ml. de Cloruro de metileno grado pesticida por el cartucho los cuales se recolectan en el tubo de ensayo antes montado.
  - h) Se filtró el tubo de ensayo con el analito, para eliminar el sulfato de sodio.
  - i) Se hizo desecar totalmente el analito filtrado con Gas Nitrógeno.
  - j) Se hizo la recuperación del analito con Hexano.
- 6 Finalmente se hizo correr el analito (CRM) por el cromatógrafo de gases para obtener los resultados.



**Gráfico 24.** Corrida material de referencia certificado (CRM). (Anexo D). (Aguirre, 2015)

#### 4.6.2 CÁLCULOS PARA 4.4'-DDT

Se tomaron datos del 4.4'-DDT (tabla 60), del material de referencia su área y su concentración.

Material de Referencia Certificado, media y desviación estándar del 4.4'-DDT:

- (X) Media declarado: 1,35 ug/l
- (S) desviación estándar en estudio: 0,247



**Tabla 60.** CRM Datos del 4.4'-DDT.

Repeticiones	Muestra (ug/l)	Lectura (área)	Resultado (ug/l)
1	1,35	126,889	1,500
2	1,35	127,987	1,519
3	1,35	128,001	1,520
4	1,35	131,003	1,572

Se realizó el cálculo del sesgo para determinar si hay diferencia significativa entre las lecturas obtenidas y la concentración del material de referencia (tabla 61).

**Tabla 61.** Cálculo del Sesgo del 4.4'-DDT.

Repeticiones	Resultado (ug/l)	CRM (ug/l)	Sesgo (X - Xa)
1	1,500	1,35	0,150
2	1,519	1,35	0,169
3	1,520	1,35	0,170
4	1,572	1,35	0,222

- (X) Media de los resultados (Tabla 61): 1,528
- (S) Desviación estándar (tabla 61): 0,031
- (n) Repeticiones: 4

Cálculos de t calculada y t tabulada (sesgo):

- t cal: 2,890
- t tab: 3,182 (n-1, 2 colas a 0,025 (95%))

t cal < t tab no hay diferencia significativa

Se determinó el promedio y la desviación estándar de las lecturas del material de referencia, con las cuales se procedió calcular t de student para ver si existe o no diferencia significativa entre las concentraciones la leídas en el equipo y la dada por el material de referencia y se realizó el porcentaje de recuperación (%R) (tabla 62).

**Tabla 62.** Porcentaje de recuperación (%R) del 4.4'-DDT.

<b>%R</b>		113	
<b>Repeticiones</b>	<b>Resultado (ug/l)</b>	<b>CRM (ug/l)</b>	<b>% Recuperación</b>
1	1,500	1,35	111
2	1,519	1,35	113
3	1,520	1,35	113
4	1,572	1,35	116

- (X) Media del porcentaje de recuperación (%R) (Tabla 62): 113
- (S) Desviación estándar (tabla 62): 2,279
- (n) Repeticiones: 4

Cálculos de t calculada y t tabulada (recuperación):

- t cal: 2,890
- t tab: 3,182 (n-1, 2 colas a 0,025 (95%))

t cal < t tab no hay diferencia significativa

Para determinar el t tabulado o crítico para grados de libertad de n-1 (es decir de 4-1=4), un valor  $\alpha = 0,05$  y 2 colas, se extrae de tabla el t tabulado que es de 3,182, cumpliéndose que  $t_{calc} < t_{tab}$ , ya que  $2,890 < 3,182$ . Es decir, no hay diferencias significativas.

#### 4.6.3 CÁLCULOS PARA 4.4'-DDD

Se tomaron datos del 4.4'-DDD (tabla 63), del material de referencia su área y su concentración.

Material de Referencia Certificado, media y desviación estándar del 4.4'-DDD:

- (X) Media declarado: 1,15 ug/l
- (S) desviación estándar en estudio: 0,495

**Tabla 63.** CRM Datos del 4.4'-DDD.

Repeticiones	Muestra (ug/l)	Lectura (área)	Resultado (ug/l)
1	1,15	86,908	1,239
2	1,15	87,889	1,251
3	1,15	88,897	1,266
4	1,15	89,934	1,281

Se realizó el cálculo del sesgo para determinar si hay diferencia significativa entre las lecturas obtenidas y la concentración del material de referencia (tabla 64).

**Tabla 64.** Cálculo del Sesgo del 4.4'-DDD.

Repeticiones	Resultado (ug/l)	CRM (ug/l)	Sesgo (X - Xa)
1	1,239	1,15	0,09
2	1,251	1,15	0,10
3	1,266	1,15	0,12
4	1,281	1,15	0,13

- (X) Media de los resultados (Tabla 64): 1,259
- (S) Desviación estándar (tabla 64): 0,018
- (n) Repeticiones: 4

Cálculos de t calculada y t tabulada (sesgo):

- t cal: 3,015
- t tab: 3,182 (n-1, 2 colas a 0,025 (95%))

t cal < t tab no hay diferencia significativa

Se determinó el promedio y la desviación estándar de las lecturas del material de referencia, con las cuales se procedió calcular t de student para ver si existe o no diferencia significativa entre las concentraciones la leídas en el equipo y la dada por el material de referencia y se realizó el porcentaje de recuperación (%R) (tabla 65).

**Tabla 65.** Porcentaje de recuperación (%R) del 4.4'-DDD.

<b>%R</b>			
109			
<b>Repeticiones</b>	<b>Resultado (ug/l)</b>	<b>CRM (ug/l)</b>	<b>% Recuperación</b>
1	1,239	1,15	108
2	1,251	1,15	109
3	1,266	1,15	110
4	1,281	1,15	111

- (X) Media del porcentaje de recuperación (%R) (Tabla 65): 109
- (S) Desviación estándar (tabla 65): 1,574
- (n) Repeticiones: 4

Cálculos de t calculada y t tabulada (recuperación):

- t cal: 3,015
- t tab: 3,182 (n-1, 2 colas a 0,025 (95%))

t cal < t tab no hay diferencia significativa

Para determinar el t tabulado o crítico para grados de libertad de n-1 (es decir de 4-1=4), un valor  $\alpha = 0,05$  y 2 colas, se extrae de tabla el t tabulado que es de 3,182, cumpliéndose que  $t_{calc} < t_{tab}$ , ya que  $3,015 < 3,182$ . Es decir, no hay diferencias significativas.

#### 4.6.4 CÁLCULOS PARA 4.4'-DDE

Se tomaron datos del 4.4'-DDE (tabla 66), del material de referencia su área y su concentración.

Material de Referencia Certificado, media y desviación estándar del 4.4'-DDE:

- (X) Media declarado: 1,47 ug/l
- (S) desviación estándar en estudio: 0,354

**Tabla 66.** CRM Datos del 4.4'-DDE.

Repeticiones	Muestra (ug/l)	Lectura (área)	Resultado (ug/l)
1	1,47	267,541	1,658
2	1,47	272,965	1,721
3	1,47	276,582	1,764
4	1,47	281,584	1,822

Se realizó el cálculo del sesgo para determinar si hay diferencia significativa entre las lecturas obtenidas y la concentración del material de referencia (tabla 67).

**Tabla 67.** Cálculo del Sesgo del 4.4'-DDE.

Repeticiones	Resultado (ug/l)	CRM (ug/l)	Sesgo (X - Xa)
1	1,658	1,47	0,19
2	1,721	1,47	0,25
3	1,764	1,47	0,29
4	1,822	1,47	0,35

- (X) Media de los resultados (Tabla 67): 1,741
- (S) Desviación estándar (tabla 67): 0,069
- (n) Repeticiones: 4

Cálculos de t calculada y t tabulada:

- t cal: 2,257
- t tab: 3,182 (n-1, 2 colas a 0,025 (95%))

t cal < t tab no hay diferencia significativa

Se determinó el promedio y la desviación estándar de las lecturas del material de referencia, con las cuales se procedió calcular t de student para ver si existe o no diferencia significativa entre las concentraciones la leídas en el equipo y la dada por el material de referencia y se realizó la % de recuperación (tabla 68).

**Tabla 68.** Porcentaje de recuperación (%R) del 4.4'-DDE.

%R		118	
Repeticiones	Resultado (ug/l)	CRM (ug/l)	% Recuperación
1	1,658	1,47	113
2	1,721	1,47	117
3	1,764	1,47	120
4	1,822	1,47	124

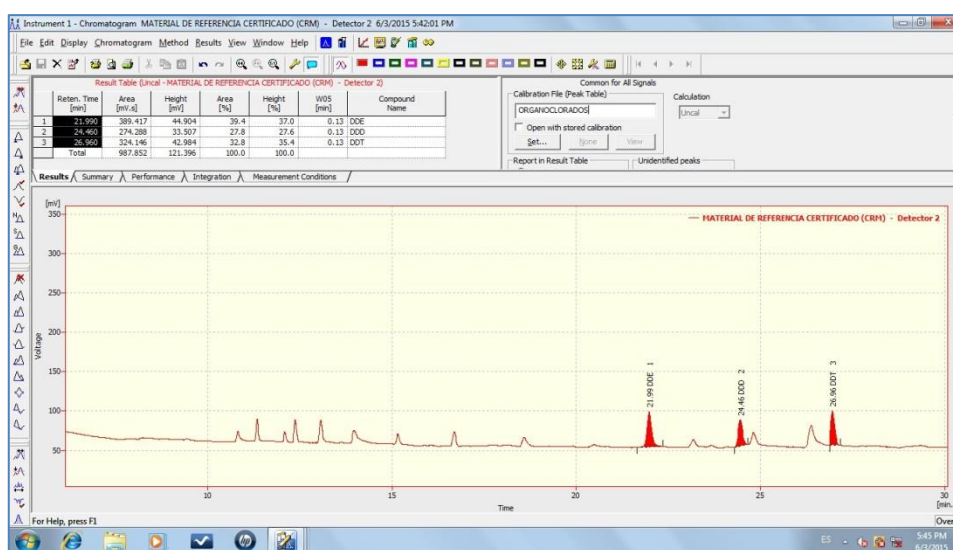
- (X) Media del porcentaje de recuperación (%R) (Tabla 68): 118
- (S) Desviación estándar (tabla 68): 4,723
- (n) Repeticiones: 4

Cálculos de t calculada y t tabulada:

- t cal: 2,257
- t tab: 3,182 (n-1, 2 colas a 0,025 (95%))

t cal < t tab no hay diferencia significativa

Para determinar el t tabulado o crítico para grados de libertad de n-1 (es decir de 4-1=4), un valor  $\alpha = 0,05$  y 2 colas, se extrae de la tabla el t tabulado que es de 3,182, cumpliéndose que  $t_{calc} < t_{tab}$ , ya que  $2,257 < 3,182$ . Es decir, no hay diferencias significativas.

**Gráfico 25.** Picos estándares vs material de referencia certificado (CRM). (Anexo D).

## 4.7 FUNCIÓN RESPUESTA

(Solís, 2013) Es la incertidumbre asociada al método utilizado, al patrón y equipos utilizados, esta incertidumbre, que se propaga a todos los resultados obtenidos, puede calcularse utilizando la información generada en el proceso de calibración.

Simbología utilizada en los cálculos:

- **Valor Nominal:** 0.50 ug/l, 1.00 ug/l, 1.50 ug/l, 2.00 ug/l y CRM.
- **Residual:** Es la diferencia entre Valor Nominal y la Concentración real detectada en el equipo.
- **uA:** Incertidumbre estándar de cada concentración.
- **uresol:** Incertidumbre de resolución del instrumento.
- **uPatrón:** Incertidumbre del instrumento de medición.
- **%uNivel:** Porcentaje de incertidumbre de cada nivel (0.50 ug/l, 1.00 ug/l, 1.50 ug/l, 2.00 ug/l y CRM).
- **Fa:** Falta de ajuste.
- **%Fa (max):** Porcentaje de falta de ajuste máximo.
- **%UFR (k:2):** Incertidumbre expandida de la función respuesta, a un nivel de confianza del 95%.
- **k:** Factor de seguridad o de cobertura. Para un nivel de confianza del 95%, se considera un valor de  $k=2$ .

Para los cálculos del plaguicida 4,4'-DDT, se encuentran los datos de las incertidumbres del equipo, balones, micropipetas (tabla 69).

**Tabla 69.** Datos de área y concentración para cada concentración del 4.4'-DDT.

N°	Valor Nominal	Lectura (Área)	Concentración (ug/l)
1	0,50	78,508	0,481
2	0,50	75,896	0,493
3	0,50	76,998	0,469
4	0,50	78,889	0,470
5	0,50	75,508	0,481
6	0,50	76,725	0,489
7	1,00	98,478	0,953
8	1,00	95,009	0,926
9	1,00	97,688	0,994
10	1,00	96,309	0,953
11	1,00	98,999	0,994
12	1,00	99,998	0,945
13	1,50	121,296	1,493
14	1,50	120,581	1,468
15	1,50	118,736	1,485
16	1,50	120,736	1,486
17	1,50	118,567	1,483
18	1,50	118,983	1,493
19	2,00	139,394	1,985
20	2,00	137,919	1,967
21	2,00	136,989	1,912
22	2,00	136,315	1,983
23	2,00	139,441	1,990
24	2,00	137,254	1,984
25	1,35 CRM	125,896	1,483
26	1,35 CRM	133,678	1,618
27	1,35 CRM	138,178	1,697
28	1,35 CRM	139,178	1,714



Pendiente intercepto y coeficiente de determinación (tabla 70).

**Tabla 70.** Resultados de pendiente intercepto y coeficiente de determinación del 4.4'-DDT.

	Área	Concentración (ug/l)
<b>m (pendiente)</b>	41,324	1,004
<b>b (intercepto)</b>	57,827	-0,014
<b>r<sup>2</sup></b>	0,951	0,985

La incertidumbre estándar (uA) (tabla 71).

**Tabla 71.** Incertidumbre estándar del 4.4'-DDT.

Concentración (ug/l)	uA (Concentración)	uA (%)
0,5	0,004	0,79
1	0,011	1,12
1,5	0,004	0,25
2,0	0,012	0,60
1,35	0,043	3,19

La incertidumbre para el patrón (tabla 72).

**Tabla 72.** Incertidumbre u patrón del 4.4'-DDT.

	Certificados	
<b>u (balón 10 ml.)</b>	0,025	ml.
<b>u (micropipeta 0 a 1000 ul.)</b>	0,130	%
<b>u (balanza analítica)</b>	0,0001	g.
<b>u (pipeta 10 ml.)</b>	0,020	ml.

Las incertidumbres y sus porcentajes (tabla 73).

**Tabla 73.** Incertidumbres y sus porcentajes del 4.4'-DDT.

	<b>Patrones</b>	<b>%</b>
<b>u (concentración)</b>		1,000
<b>u (micropipeta 0 a 1000 ul.)</b>	0,130	0,065
<b>u (balanza analítica)</b>	0,0001	0,0001
<b>u (balón 10 ml.)</b>	0,025	0,013
<b>u (pipeta 10 ml.)</b>	0,020	0,010
<b>uPatrón</b>		0,504

Con estos valores se procede a determinar la incertidumbre para cada nivel de concentración (tabla 74).

**Tabla 74.** Incertidumbre para cada nivel de concentración del 4.4'-DDT.

<b>0,50 (ug/l)</b>	
uA	0,793
uresol	1,458
uPatrón	0,504
%uNivel	1,735
<b>1,00 (ug/l)</b>	
uA	1,124
uresol	1,458
uPatrón	0,504
%uNivel	1,909
<b>1,50 (ug/l)</b>	
uA	0,250
uresol	1,458
uPatrón	0,504
%uNivel	1,563
<b>2,00 (ug/l)</b>	
uA	0,603
uresol	1,458
uPatrón	0,504
%uNivel	1,656
<b>1,35 (ug/l)</b>	
uA	3,185
uresol	1,458
uPatrón	0,504
%uNivel	3,539

Se estableció el porcentaje del residual más elevado de cada nivel de concentración, se restó la concentración obtenida en la lectura menos la concentración deseada (ej.: 0,481 – 0,50 ug/l), se obtuvo el residual de las 3 lecturas por cada nivel de concentración (tabla 75).

**Tabla 75.** Establecimiento del porcentaje de residual más elevado del 4.4'-DDT.

Nº	Residual
1	0,019
2	0,007
3	0,031
4	0,030
5	0,019
6	0,011
7	0,047
8	0,074
9	0,006
10	0,047
11	0,006
12	0,055
13	0,007
14	0,032
15	0,015
16	0,014
17	0,017
18	0,007
19	0,015
20	0,033
21	0,088
22	0,017
23	0,010
24	0,016

Se tomó el valor más alto de los 3 residuos para cada nivel de concentración (tabla 76).

**Tabla 76.** Falta de ajuste (fa) del 4.4'-DDT.

Valor Nominal	Fa
0,50	0,031
1,00	0,074
1,50	0,032
2,00	0,088

Se saca el porcentaje dividiendo el resultado del valor máximo de residuo para cada nivel de concentración deseado por 100%. El resultado del porcentaje para cada nivel de concentración se suma (%FA máx.), (tabla 77).

**Tabla 77.** % Falta de ajuste del 4.4'-DDT.

<b>Valor Nominal</b>	
0,50	6,20
1,00	7,40
1,50	2,13
2,00	4,40
<b>%FA (máx):</b>	<b>7,40</b>

Con este resultado se suma más el porcentaje de incertidumbre para cada nivel y se multiplica por 2 ( $k=2$ ), obteniendo la incertidumbre expandida para cada nivel de concentración. Se escogió el valor de la mayor de las incertidumbres de cada nivel (%UFR  $k:2$ ) para trabajar con esa (tabla 78) y añadir al cálculo de la incertidumbre total expandida.

**Tabla 78.** Incertidumbre, expandida  $k: 2$  del 4.4'-DDT.

<b>Valor Nominal</b>	
0,50	10,87
1,00	11,22
1,50	10,53
2,00	10,71
<b>%UFR (k:2)</b>	<b>11,59</b>

Para los cálculos del plaguicida 4,4'-DDD, se sigue el mismo procedimiento.

Datos de las incertidumbres del equipo, balones, micropipetas (tabla 79).

**Tabla 79.** Datos de área y concentración para cada concentración del 4.4'-DDD.

N°	Valor nominal	Lectura (Área)	Concentración (ug/l)
1	0,5	31,889	0,481
2	0,5	33,998	0,493
3	0,5	28,009	0,469
4	0,5	32,998	0,470
5	0,5	31,889	0,481
6	0,5	33,998	0,489
7	1,0	61,761	0,953
8	1,0	73,733	0,926
9	1,0	71,896	0,994
10	1,0	75,776	0,953
11	1,0	72,622	0,994
12	1,0	78,436	0,945
13	1,5	94,080	1,493
14	1,5	112,567	1,468
15	1,5	96,296	1,485
16	1,5	111,987	1,486
17	1,5	113,983	1,483
18	1,5	116,678	1,493
19	2,0	134,495	1,985
20	2,0	143,25	1,967
21	2,0	135,49	1,912
22	2,0	141,246	1,983
23	2,0	133,49	1,990
24	2,0	140,246	1,984
25	1,15 CRM	85,857	1,222
26	1,15 CRM	86,312	1,229
27	1,15 CRM	87,198	1,242
28	1,15 CRM	88,934	1,266

Pendiente intercepto y coeficiente de determinación (tabla 80).

**Tabla 80.** Resultados de pendiente intercepto y coeficiente de determinación del 4.4'-DDD.

	Área	Concentración
<b>m (pendiente)</b>	70,451	0,996
<b>b (intercepto)</b>	-0,100	-0,013
<b>r<sup>2</sup></b>	0,975	0,996

La incertidumbre estándar (tabla 81).

**Tabla 81.** Incertidumbre estándar del 4.4'-DDD.

Concentración (ug/l)	uA (Concentración.)	uA (%)
0,5	0,004	0,79
1	0,011	1,12
1,5	0,004	0,25
2,0	0,012	0,60
1,15	0,008	0,69

La incertidumbre para el patrón (tabla 82).

**Tabla 82.** Incertidumbre u patrón del 4.4'-DDD.

	Certificados	
<b>u (balón 10 ml.)</b>	0,025	ml.
<b>u (micropipeta 0 a 1000 ul.)</b>	0,130	%
<b>u (balanza analítica)</b>	0,0001	g.
<b>u (pipeta 10 ml.)</b>	0,020	ml.

Las incertidumbres y sus porcentajes (tabla 83).

**Tabla 83.** Incertidumbres y sus porcentajes del 4.4'-DDD.

	<b>Patrones</b>	<b>%</b>
<b>u (concentración)</b>		1,000
<b>u (micropipeta 0 a 1000 ul.)</b>	0,130	0,065
<b>u (balanza analítica)</b>	0,0001	0,0001
<b>u (balón 10 ml.)</b>	0,025	0,013
<b>u (pipeta 10 ml.)</b>	0,020	0,010
<b>uPatrón</b>		0,504

Con estos valores se procede a determinar la incertidumbre para cada nivel de concentración (tabla 84).

**Tabla 84.** Incertidumbre para cada nivel de concentración del 4.4'-DDD.

<b>0,50 (ug/l)</b>	
uA	0,793
uresol	1,458
uPatrón	0,504
%uNivel	1,735
<b>1,00 (ug/l)</b>	
uA	1,124
uresol	1,458
uPatrón	0,504
%uNivel	1,909
<b>1,50 (ug/l)</b>	
uA	0,250
uresol	1,458
uPatrón	0,504
%uNivel	1,563
<b>2,00 (ug/l)</b>	
uA	0,603
uresol	1,458
uPatrón	0,504
%uNivel	1,656
<b>1,15 (ug/l)</b>	
uA	0,689
uresol	1,458
uPatrón	0,504
%uNivel	1,690

Se estableció el porcentaje del residual más elevado de cada nivel de concentración, se restó la concentración obtenida en la lectura menos la concentración deseada (ej: 0,481 – 0,50 ug/l), se obtuvo el residual de las 3 lecturas por cada nivel de concentración (tabla 85).

**Tabla 85.** Establecimiento del porcentaje de residual más elevado del 4.4'-DDD.

N°	Residual
1	0,019
2	0,007
3	0,031
4	0,030
5	0,019
6	0,011
7	0,047
8	0,074
9	0,006
10	0,047
11	0,006
12	0,055
13	0,007
14	0,032
15	0,015
16	0,014
17	0,017
18	0,007
19	0,015
20	0,033
21	0,088
22	0,017
23	0,010
24	0,016



Se tomó el valor más alto de los 3 residuos para cada nivel de concentración (tabla 86).

**Tabla 86.** Falta de ajuste (fa) del 4.4'-DDD.

Valor Nominal	Fa
0,5	0,031
1,0	0,074
1,5	0,032
2,0	0,088

Se saca el porcentaje dividiendo el resultado del valor máximo de residuo para cada nivel de concentración deseado por 100%. El resultado del porcentaje para cada nivel de concentración se suma (%FA máx.), (tabla 87).

**Tabla 87.** % Falta de ajuste del 4.4'-DDD.

Valor Nominal	
0,5	6,20
1,0	7,40
1,5	2,13
2,0	4,40
<b>%FA (máx):</b>	<b>7,40</b>

Con este resultado se suma más el porcentaje de incertidumbre para cada nivel y se multiplica por 2 ( $k=2$ ), obteniendo la incertidumbre expandida para cada nivel de concentración. Se escogió el valor de la mayor de las incertidumbres de cada nivel (%UFR  $k:2$ ) para trabajar con esa (tabla 88) y añadir al cálculo de la incertidumbre total expandida.

**Tabla 88.** Incertidumbre, expandida  $k: 2$  del 4.4'-DDD.

Valor Nominal	
0,5	10,87
1,0	11,22
1,5	10,53
2,0	10,71
<b>%UFR (k:2)</b>	<b>11,59</b>

Para los cálculos del plaguicida 4,4'-DDE, se sigue el mismo procedimiento.

Datos de las incertidumbres del equipo, balones, micropipetas (tabla 89).

**Tabla 89.** Datos de área y concentración para cada concentración del 4.4'-DDE.

N°	Valor nominal	Lectura (área)	Concentración (ug/l)
1	0,5	147,369	0,481
2	0,5	148,789	0,493
3	0,5	145,896	0,469
4	0,5	152,998	0,470
5	0,5	147,369	0,481
6	0,5	153,345	0,489
7	1,0	205,369	0,953
8	1,0	208,693	0,926
9	1,0	211,785	0,994
10	1,0	215,843	0,953
11	1,0	215,941	0,994
12	1,0	219,759	0,945
13	1,5	272,965	1,493
14	1,5	276,582	1,468
15	1,5	279,594	1,485
16	1,5	283,785	1,486
17	1,5	277,753	1,483
18	1,5	283,123	1,493
19	2,0	338,159	1,985
20	2,0	344,806	1,967
21	2,0	322,261	1,912
22	2,0	330,963	1,983
23	2,0	331,743	1,990
24	2,0	338,661	1,984
25	1,47 CRM	267,541	1,658
26	1,47 CRM	272,965	1,721
27	1,47 CRM	276,582	1,764
28	1,47CRM	281,584	1,822

Pendiente intercepto y coeficiente de determinación (tabla 90).

**Tabla 90.** Resultados de pendiente intercepto y coeficiente de determinación del 4.4'-DDE.

	Área	Concentración (ug/l)
<b>m (pendiente)</b>	124,243	1,012
<b>b (intercepto)</b>	88,518	-0,022
<b>r<sup>2</sup></b>	0,994	0,984

La incertidumbre estándar (tabla 91).

**Tabla 91.** Incertidumbre estándar del 4.4'-DDE.

Concentración (ug/l)	uA (Concentración)	uA (%)
0,5	0,004	0,79
1	0,011	1,12
1,5	0,004	0,25
2,0	0,012	0,60
1,47	0,028	1,93

La incertidumbre para el patrón (tabla 92).

**Tabla 92.** Incertidumbre u patrón del 4.4'-DDE.

	Certificados	
<b>u (balón 10 ml.)</b>	0,025	ml.
<b>u (micropipeta 0 a 1000 ul.)</b>	0,130	%
<b>u (balanza analítica)</b>	0,0001	g.
<b>u (pipeta 10 ml.)</b>	0,020	ml.

Las incertidumbres y sus porcentajes (tabla 93).

**Tabla 93.** Incertidumbres y sus porcentajes del 4.4'-DDE.

	Patrones	%
<b>u (concentración)</b>		1,000
<b>u (micropipeta 0 a 1000 ul.)</b>	0,130	0,065
<b>u (balanza analítica)</b>	0,0001	0,0001
<b>u (balón 10 ml.)</b>	0,025	0,013
<b>u (pipeta 10 ml.)</b>	0,020	0,010
<b>uPatrón</b>		0,504

Con estos valores se procede a determinar la incertidumbre para cada nivel de concentración (tabla 94).

**Tabla 94.** Incertidumbre para cada nivel de concentración del 4.4'-DDE.

<b>0,50 (ug/l)</b>	
uA	0,793
uresol	1,458
uPatrón	1,002
%uNivel	1,939
<b>1,00 (ug/l)</b>	
uA	1,124
uresol	1,458
uPatrón	1,002
%uNivel	2,096
<b>1,50 (ug/l)</b>	
uA	0,250
uresol	1,458
uPatrón	1,002
%uNivel	1,787
<b>2,00 (ug/l)</b>	
uA	0,603
uresol	1,458
uPatrón	1,002
%uNivel	1,869
<b>1,47 (ug/l)</b>	
uA	1,928
uresol	1,458
uPatrón	1,002
%uNivel	2,617

Se estableció el porcentaje del residual más elevado de cada nivel de concentración, se restó la concentración obtenida en la lectura menos la concentración deseada (ej: 0,481 – 0,50 ug/l), se obtuvo el residual de las 3 lecturas por cada nivel de concentración (tabla 95).

**Tabla 95.** Establecimiento del porcentaje de residual más elevado del 4.4'-DDE.

N°	Residual
1	0,019
2	0,007
3	0,031
4	0,030
5	0,019
6	0,011
7	0,047
8	0,074
9	0,006
10	0,047
11	0,006
12	0,055
13	0,007
14	0,032
15	0,015
16	0,014
17	0,017
18	0,007
19	0,015
20	0,033
21	0,088
22	0,017
23	0,010
24	0,016

Se tomó el valor más alto de los 3 residuos para cada nivel de concentración (tabla 96).

**Tabla 96.** Falta de ajuste (fa) del 4.4'-DDE.

Valor Nominal	Fa
0,5	0,031
1,0	0,074
1,5	0,032
2,0	0,088

Se saca el porcentaje dividiendo el resultado del valor máximo de residuo para cada nivel de concentración deseado por 100%. El resultado del porcentaje para cada nivel de concentración se suma (%FA máx.), (tabla 97).

**Tabla 97.** % Falta de ajuste del 4.4'-DDE.

Valor Nominal	
0,5	6,20
1,0	7,40
1,5	2,13
2,0	4,40
<b>%FA (máx):</b>	<b>7,40</b>

Con este resultado se suma más el porcentaje de incertidumbre para cada nivel y se multiplica por 2 ( $k=2$ ), obteniendo la incertidumbre expandida para cada nivel de concentración. Se escogió el valor de la mayor de las incertidumbres de cada nivel (%UFR  $k:2$ ) para trabajar con esa (tabla 98) y añadir al cálculo de la incertidumbre total expandida.

**Tabla 98.** Incertidumbre, expandida  $k: 2$  del 4.4'-DDE.

Valor Nominal	
0,5	11,28
1,0	11,59
1,5	10,97
2,0	11,14
<b>%UFR (k:2)</b>	<b>11,59</b>

## 4.8 INCERTIDUMBRE

La determinación de la incertidumbre incluye varios pasos:

La determinación de las fuentes y materiales (tabla 99); donde se encuentra las incertidumbres.

**Tabla 99.** Incertidumbre de los equipos de medición utilizados para 4.4'-DDT. 4.4'-DDD y 4.4'-DDE.

Equipo	Incertidumbre		Unidades
UFR (calibración)	11,59		%
u (balón 10 ml.)	0,025	0,03	%
Resolución del Cromatógrafo de Gases	0,001	3,57	%

Los resultados de los porcentajes de repetibilidad, de reproducibilidad y exactitud; combinar las diferentes incertidumbres y el último paso es la determinación de la incertidumbre expandida es decir, multiplicar la incertidumbre combinada por un factor de cobertura de  $k = 2$ , a fin de entregar un 95% de confianza, y así establecer el intervalo entorno al resultado de la medición en el cual se puede esperar que se incluya la mayor fracción de la distribución de los valores que se pueden atribuir razonablemente al mesurando. Ver (4,4'-DDT tablas 100), (4,4'-DDD tablas 101) y (4,4'-DDE tabla 102).

**Tabla 100.** Incertidumbre repetibilidad, reproducibilidad, para el estándar más bajo (0,50 ug/L) y exactitud para el CRM del 4.4'-DDT.

	(ug/l)	%
<b>Repetibilidad</b>	0,013	2,67
<b>Reproducibilidad</b>	0,015	3,08
<b>Exactitud</b>	0,031	2,28

**Tabla 101.** Incertidumbre repetibilidad, reproducibilidad, para el estándar más bajo (0,50 ug/L) y exactitud para el CRM del 4.4'-DDD.

	(ug/l)	%
<b>repetibilidad</b>	0,022	4,47
<b>reproducibilidad</b>	0,0069	1,38
<b>exactitud</b>	0,0181	1,57

**Tabla 102.** Incertidumbre repetibilidad, reproducibilidad, para el estándar más bajo (0,50 ug/L) y exactitud para el CRM del 4.4'-DDE.

	(ug/l)	%
<b>Repetibilidad</b>	0,012	2,75
<b>Reproducibilidad</b>	0,0254	5,08
<b>Exactitud</b>	0,0692	4,71

La incertidumbre de los materiales se trató de reducir en lo posible, adquiriendo balones certificados marca boeco ( $\pm 0,025$  ml), micropipetas marca boeco de 0 a 1000 ul ( $\pm 0,13\%$ ) y 0 a 10 ml ( $\pm 0,02\%$ ) para preparar las diluciones con mayor exactitud y precisión.

Los resultados son del estándar de concentración en ug/l + (incertidumbre expandida), que corresponde a 0,50 a 2,00 ug/l + 2\* (incertidumbre acumulada), que representa un nivel de confianza del 95 % dentro del cual se encontraría el valor real. Ver (4,4'-DDT tablas 103), (4,4'-DDD tablas 104) y (4,4'-DDE tabla 105).

**Tabla 103.** Valores de incertidumbre acumulada y expandida del 4.4'-DDT.

	%
<b>Incertidumbre Acumulada</b>	7,72
<b>Incertidumbre Expandida</b>	15,45

Rango: de 0,50 a 2,00 ug/l; U%: 15,45.

**Tabla 104.** Valores de incertidumbre acumulada y expandida del 4.4'-DDD.

	%
<b>Incertidumbre Acumulada</b>	7,89
<b>Incertidumbre Expandida</b>	15,77

Rango: de 0,50 a 2,00 ug/l; U%: 15,77.

**Tabla 105.** Valores de incertidumbre acumulada y expandida del 4.4'-DDE.

	%
<b>Incertidumbre Acumulada</b>	9,58
<b>Incertidumbre Expandida</b>	19,17

Rango: de 0,50 a 2,00 ug/l; U%: 19,17

El método está validado ya que la incertidumbre no sobrepasa el valor del 20% que dice la guía alemana Eurachem para métodos validados. (Eurachem Guide, 1998).



## 4.9 ANÁLISIS DE VARIANZA

Se realizó un análisis de varianza con Anova simple con el programa de Statgraphics Centurion XVI.

### **ANOVA Simple – Área por Concentración (Día)**

- Variable dependiente: Área
- Factor: Concentración (ug/l)
- Selección de la Variable: Día

Cálculos del plaguicida 4.4'-DDT, en la columna A se añadió los datos de concentración de cada nivel, en la columna B los días de experimentación y los resultados de las lecturas de las áreas en la columna C. Los resultados del programa fueron los siguientes:

Resumen Estadístico para Área (tabla 106), donde se encuentran los resultados de promedio, desviación estándar, coeficiente de variación (%), el valor máximo y mínimo de los datos de área de los 3 días para cada concentración.

**Tabla 106.** Resumen Estadístico para Área del 4.4'-DDT.

Concentración (ug/l)	Recuento	Promedio	Desviación Estándar	Coeficiente de Variación	Mínimo	Máximo
0,5	3	78,2943	0,941357	1,20233%	77,679	79,378
1	3	97,9783	0,823808	0,840807%	97,339	98,908
1,5	3	119,613	0,92586	0,774046%	118,736	120,581
2	3	138,016	0,815369	0,590777%	137,254	138,876
Total	12	108,476	23,4706	21,6368%	77,679	138,876

Tabla ANOVA para Área por Concentración (tabla 107), el programa dio los resultados de suma de cuadrados, grados de libertad, cuadrado medio y razón F.

**Tabla 107.** Tabla ANOVA Área por Concentración del 4.4'-DDT.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	6053,39	3	2017,8	2614,70	0,0000
Intra grupos	6,17371	8	0,771714		
Total (Corr.)	6059,57	11			

Tabla de Medias área por concentración con intervalos de confianza del 95,0% (tabla 108).

**Tabla 108.** Tabla de Medias para Área por Concentración con intervalos de confianza del 95,0% del 4.4'-DDT.

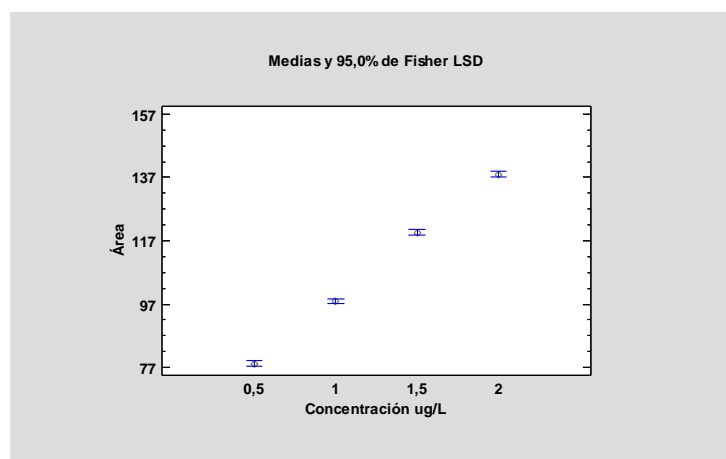
Nivel	Casos	Error Est.			
		Media	(s agrupada)	Límite Inferior	Límite Superior
0,5	3	78,2943	0,507186	77,4673	79,1213
1	3	97,9783	0,507186	97,1513	98,8053
1,5	3	119,613	0,507186	118,786	120,44
2	3	138,016	0,507186	137,189	138,843
Total	12	108,476			

Verificación de varianza (tabla 109).

**Tabla 109.** Verificación de la Varianza del 4.4'-DDT.

	Prueba	Valor-P
Levene's	0,076725	0,970821

La figura 64 medias de concentración vs área y 95 % de Fisher que dio el programa es de mucha importancia ya que ayuda a interpretar mejor los resultados.



**Figura 64.** Medias de concentración vs área y 95 % de Fisher del 4.4'-DDT.

Para los cálculos del 4,4'-DDD, se sigue el mismo procedimiento.

En la columna A se añadió los datos de concentración de cada nivel, en la columna B los días de experimentación y los resultados de las lecturas de las áreas en la columna C. Los resultados de la corrida del programa fueron los siguientes:

Resumen Estadístico para Área (tabla 110), donde se encuentran los resultados de promedio, desviación estándar, coeficiente de variación (%), el valor máximo y mínimo de los datos de área de los 3 días para cada concentración.

**Tabla 110.** Resumen Estadístico para Área del 4.4'-DDD.

Concentración (ug/l)	Recuento	Promedio	Desviación Estándar	Coeficiente de Variación	Mínimo	Máximo
0,5	3	35,6997	1,16038	3,2504%	34,508	36,826
1	3	74,1247	1,57602	2,12617%	72,622	75,765
1,5	3	114,126	1,54395	1,35285%	112,658	115,736
2	3	134,492	1,0	0,743544%	133,49	135,49
Total	12	89,6104	39,6564	44,2542%	34,508	135,49

Tabla ANOVA para Área por Concentración (tabla 111), el programa dio los resultados de suma de cuadrados, grados de libertad, cuadrado medio y razón F.

**Tabla 111.** Tabla ANOVA Área por Concentración del 4.4'-DDD.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	17284,5	3	5761,5	3194,58	0,0000
Intra grupos	14,4282	8	1,80353		
Total (Corr.)	17298,9	11			

Tabla de Medias área por concentración con intervalos de confianza del 95,0% (tabla 112).

**Tabla 112.** Tabla de Medias para Área por Concentración con intervalos de confianza del 95,0% del 4.4'-DDD.

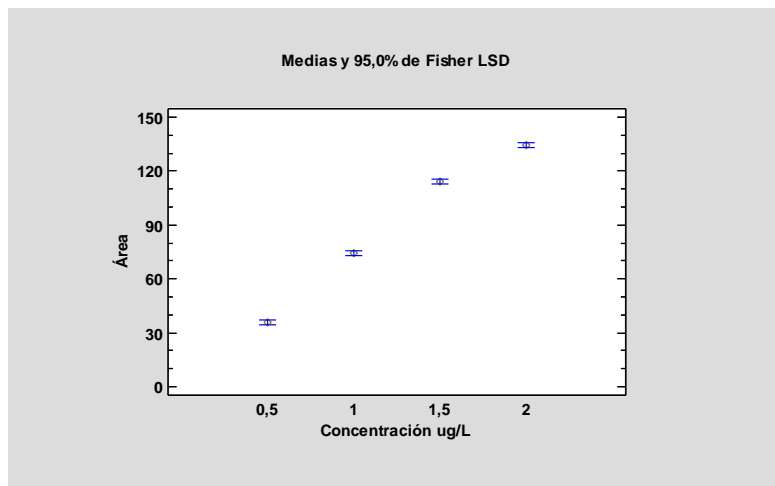
Nivel	Casos	Media	Error Est.		
			(s agrupada)	Límite Inferior	Límite Superior
0,5	3	35,6997	0,775355	34,4354	36,964
1	3	74,1247	0,775355	72,8604	75,389
1,5	3	114,126	0,775355	112,861	115,39
2	3	134,492	0,775355	133,227	135,756
Total	12	89,6104			

Verificación de varianza (tabla 113).

**Tabla 113.** Verificación de la Varianza del 4.4'-DDD.

	Prueba	Valor-P
Levene's	0,255191	0,855618

La Figura 65 medias de concentración vs área y 95 % de Fisher que dio el programa es de mucha importancia ya que ayuda a interpretar mejor los resultados.



**Figura 65.** Medias de concentración vs área y 95 % de Fisher del 4.4'-DDD.

Para los cálculos del 4,4'-DDE, se sigue el mismo procedimiento.

En la columna A se añadió los datos de concentración de cada nivel, en la columna B los días de experimentación y los resultados de las lecturas de las áreas en la columna C. Los resultados de la corrida del programa fueron los siguientes:

Resumen Estadístico para Área (tabla 114), donde se encuentran los resultados de promedio, desviación estándar, coeficiente de variación (%), el valor máximo y mínimo de los datos de área de los 3 días para cada concentración.

**Tabla 114.** Resumen Estadístico para Área del 4.4'-DDE.

Concentración (ug/l)	Recuento	Promedio	Desviación Estándar	Coeficiente de Variación	Mínimo	Máximo
0,5	3	147,53	1,18672	0,804392%	146,432	148,789
1	3	202,41	2,93676	1,4509%	199,496	205,369
1,5	3	275,223	2,40556	0,874041%	272,965	277,753
2	3	325,267	2,82574	0,868746%	322,261	327,869
Total	12	237,607	70,9695	29,8684%	146,432	327,869

Tabla ANOVA para Área por Concentración (tabla 115), el programa dio los resultados de suma de cuadrados, grados de libertad, cuadrado medio y razón F.

**Tabla 115.** Tabla ANOVA Área por Concentración del 4.4'-DDE.

<b>Fuente</b>	<b>Suma de Cuadrados</b>	<b>Gl</b>	<b>Cuadrado Medio</b>	<b>Razón-F</b>	<b>Valor-P</b>
Entre grupos	55355,8	3	18451,9	3100,59	0,0000
Intra grupos	47,6088	8	5,9511		
Total (Corr.)	55403,4	11			

Tabla de Medias área por concentración con intervalos de confianza del 95,0% (tabla 116).

**Tabla 116.** Tabla de Medias para Área por Concentración con intervalos de confianza del 95,0% del 4.4'-DDE.

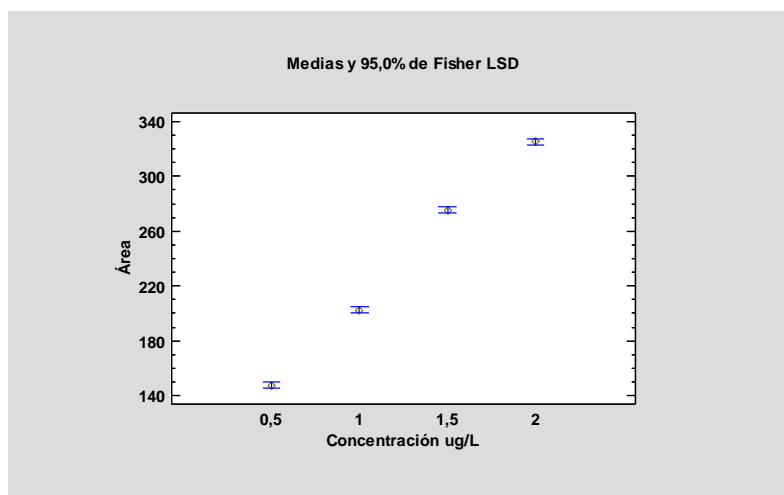
<b>Nivel</b>	<b>Casos</b>	<b>Media</b>	<b>Error Est.</b>		
			<b>(s agrupada)</b>	<b>Límite Inferior</b>	<b>Límite Superior</b>
0,5	3	147,53	1,40844	145,233	149,827
1	3	202,41	1,40844	200,113	204,707
1,5	3	275,223	1,40844	272,926	277,52
2	3	325,267	1,40844	322,97	327,564
Total	12	237,607			

Verificación de varianza (tabla 117).

**Tabla 117.** Verificación de la Varianza del 4.4'-DDE.

	<b>Prueba</b>	<b>Valor-P</b>
Levene's	0,535156	0,671071

La Figura 66 medias de concentración vs área y 95 % de Fisher que dio el programa es de mucha importancia ya que ayuda a interpretar mejor los resultados.



**Figura 66.** Medias de concentración vs área y 95 % de Fisher del 4.4'-DDE.

## CAPÍTULO 5 CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

### 5.1 CONCLUSIONES

- Se estandarizó el método por cromatografía de gases para determinar plaguicidas organoclorados en el agua potable.
- Al analizar los resultados del método mediante pruebas estadísticas, se acepta la Hipótesis Alternativa que dice “Si es posible la determinación de plaguicidas organoclorados en el agua potable, por medio de la técnica de cromatografía de gases”.
- El método expuso una linealidad muy aceptable en la calibración del equipo, con valores de coeficientes de correlación mayores a 0,999 para los tres plaguicidas organoclorados (DDT, DDD y DDE).
- El equipo presenta buena sensibilidad, obteniendo resultados del límite de detección y el límite de cuantificación cercanos al valor estimado.
- La precisión del método en términos de repetibilidad y reproducibilidad son aceptables, se obtuvieron resultados del porcentaje del coeficiente variación (%CV) menores al 10%.
- La exactitud presentó valores del sesgo o error sistemático menores, con la prueba de t de Student de dos colas se concluyó que no existe una diferencia significativa entre ellos.
- El material de referencia certificado (CRM) se evaluó con la técnica de extracción en fase sólida (SPE), obteniendo porcentajes de recuperación entre (80 a 120)% rangos permitidos para este tipo de análisis.
- Se determinó la incertidumbre de medición de todo el proceso y se concluyó que el método está validado ya que se obtuvieron resultados de incertidumbre expandida de todos los plaguicidas menores al 20% límite aceptable para métodos validados según la Guía Alemana Eurachem.
- Después de haber realizado el análisis de varianza con el programa Statgraphics Centurion, utilizando los datos del área, la concentración (ug/l) y el día, se concluyó que no existe diferencia significativa entre ellas aprobando los resultados del método.

- Con este método analítico la EMAPA-I puede llevar a cabo un control de plaguicidas organoclorados en todos sectores y brindar un servicio de calidad cumpliendo con la Norma Técnica Ecuatoriana 1108: 2011.



## 5.2 RECOMENDACIONES

- En la preparación de patrones y material de referencia certificado (CRM), tomar todo tipo de precauciones y utilizar el equipo apropiado (campana de extracción de gases, mandil y guantes de nitrilo), ya que los solventes orgánicos y los estándares de plaguicidas organoclorados son altamente peligrosos (pueden ingresar por la piel y vías respiratorias).
- Para el ajuste de la metodología del cromatógrafo de gases, se debe realizar previamente varias pruebas con las rampas de temperatura con el fin de determinar la correcta separación y cuantificación de los analitos en relación de Señal/Ruido (S/R).
- Se sugiere aplicar la extracción en fase sólida (SPE) para la extracción de muestras, ya que esta técnica se realiza en menor tiempo en relación a otras, provoca una mínima contaminación ambiental debido a que consume menos cantidad de solventes y otorga buenos porcentajes de recuperación.
- En la microjeringa del inyector del cromatógrafo de gases, se recomienda eliminar todo el aire, previo a la inyección de la muestra en la columna, ya que puede ingresar a la columna una cantidad menor a la deseada afectando en el resultado final.
- Realizar la limpieza de la columna antes de correr otro analito (corridas con solventes), para evitar residuos e interferencias que afecten la señal en el cromatograma.
- Articular todo el esfuerzo posible para fortalecer la capacidad científica y tecnológica de la Universidad Técnica del Norte, la Facultad de Ingeniería en Ciencias Agropecuarias y Ambientales y la Carrera de Ingeniería Agroindustrial, que permita minimizar las actuales barreras y promover el desarrollo de técnicas cromatográficas para el control de calidad en agua, materias primas y alimentos procesados.
- Ampliar y adecuar el lugar de análisis cromatográfico en el laboratorio de control de calidad de agua de la EMAPA-I con el espacio y estructura adecuada; además calibrar el cromatógrafo de gases con todos los plaguicidas organoclorados y acoplar el equipo para determinar plaguicidas organofosforados, estudios de esta índole permitirá llevar un control mejor y completo de plaguicidas en el cantón Ibarra.

## CAPÍTULO 6 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abburrá, R., & Sbarato, D. (2009). *El Manejo de residuos sólidos urbanos convencionales y no convencionales* (Vol. 1). Cordova, Argentina: Encuentro.
- Abaham, E., Braga, L., Dome, E., López, J., Mercadel, I. & Saraví, R., (2015). *Enciclopedia del Ambiente* (W. Volkheimer, L. Scafati, D. Melendi). Mendoza, Argentina: CONICET.
- Agencia Ecuatoriana de aseguramiento de la calidad, AGROCALIDAD. (2014). Recuperado el 17 de 5 de 2014, de <http://www.agrocalidad.gob.ec/plaguicidas-agricolas/>
- Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos,EPA 508. (2014). Recuperado el 12 de 5 de 2014, de [http://water.epa.gov/scitech/methods/cwa/bioindicators/upload/2007\\_11\\_06\\_methods\\_method\\_508.pdf](http://water.epa.gov/scitech/methods/cwa/bioindicators/upload/2007_11_06_methods_method_508.pdf)
- Anguiano, O. L., & Montagna, C. M. (2012). *Clasificación y Toxicología de los Plaguicida*. Neuquén, Neuquén, Argentina: Universidad Nacional del Comahue.
- Angurell et al. (2012). Recuperado el 10 de 20 de 2014, de <http://www.ub.edu/oblq/oblq%20castellano/index1.html#>
- Aquilla, B. (2015). *Efectos colinesterásicos y contaminación del agua causados por el uso de plaguicidas en zonas agrícolas del canton Santa Isabel*. Cuenca, Azuay, Ecuador: Universidad de Cuenca.
- Avalos, C. (2010). El polémico uso de Agroquímicos. *Revista Generación Ecología*.
- Betancur, B. (2013). *Biorremediación de suelo contaminado con el pesticida ddt mediante protocolos de bioestimulación y adición de surfactante*. Medellín, Medellín, Colombia: Universidad Nacional de Colombia. Recuperado el 8 de 2 de 2014, de <http://www.bdigital.unal.edu.co/9164/1/1088253581.2013.pdf>
- Báez, E. (2010). *Determinación de plaguicidas en el agua*. Obregón, Sonora, México: Instituto Tecnológico de Sonora.
- Codex Alimentarius. (2010). *Directrices Sobre La Terminología Analítica*. Recuperado el 21 de 10 de 2014, de <http://www.codexalimentarius.org/search->

results/?cx=018170620143701104933%3Ai-zresgmxec&cof=FORID%3A11&q=validaci%C3%B3n&sa.x=0&sa.y=0&sa=search&siteurl=http%3A%2F%2Fwww.codexalimentarius.org%2F&siteurl=www.codexalimentarius.org%2F&ref=www.google.com.ec%2F&ss=2197j656711j11

Castillo, B., & González, R. (13 de 12 de 1995). Validación. (C. d. Farmacéutica., Ed.) *Revista Cubana Farm, 1*.

De Romedi, A., Nassetta, M. & Córpora, R. (2011). Validación de la metodología para análisis de residuos de plaguicidas en agua para consumo humano. (M. d. Tecnología, Ed.) *Revista de Salud Pública*. Recuperado el 10 de 2 de 2014, de [http://www.saludpublica.fcm.unc.edu.ar/sites/default/files/RSP11\\_2\\_06\\_art3.pdf](http://www.saludpublica.fcm.unc.edu.ar/sites/default/files/RSP11_2_06_art3.pdf)

Delgado, V. A. (2014). *Desarrollo de un procedimiento analítico para cuantificar trazas de plaguicidas organoclorados en muestras de hortalizas en Ecuador*. La Habana, Cuba: Universidad de la Habana.

Duffau, B., Rojas, F., Guerrero, I., Roa, L., Rodríguez, L., Soto, M., . . . Sandoval, S. (2010). *Validación de métodos y determinación de la incertidumbre de la medición* (Vol. 1). (S. Sandoval, Ed.) Santiago, Chile: Sección Metrología Ambiental y de Alimentos.

Echeverría, J. M. (2013). *Sustancia tóxica DDT en el Ecuador: ¿Se cumplen las normas del derecho internacional, constitucional y de la legislación vigente?* Quito, Pichincha, Ecuador: Universidad San Francisco de Quito.

Empresa Municipal de Agua potable y Alcantarillado de Ibarra, EMAPA-I. (2014). Recuperado el 5 de 5 de 2014, de [http://www.emapaibarra.gob.ec/?page\\_id=1507](http://www.emapaibarra.gob.ec/?page_id=1507)

Eurachem Guide. (1998). "A laboratory guide to method validation and related to topics", Recuperado el 15 de 5 de 2015, de <http://www.eurachem.org/index.php/publications/guides/mv>

Fernández, I., & García, E. (2012). *RiuNet*. Recuperado el 15 de 2 de 2015, de <https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/16719/M%C3%A9todo%20Patr%C3%B3n%20Externo.pdf?sequence=1>

Gary, D., & Christian. (2010). *Química Analítica* (Vol. 6). México, México: Mc. Graw Hill.

- Giménez, A. (2012). *Captura y caracterización de compuestos aromáticos volátiles en alimentos cocinados. Estudio preliminar*. Cartagena, Bolívar, Colombia: Universidad Politécnica de Cartagena.
- Henao, S., & Nieto, O. (2013). Recuperado el 21 de 2 de 2013, de <http://www.bvsde.ops-oms.org/bvsacd/eco/034059/034059-04.pdf>
- Instituto Nacional de Estadísticas y Censos, INEC. (2012). Recuperado el 12 de 3 de 2014, de <http://www.ecuadorencifras.gob.ec/wp-content/descargas/Presentaciones/Plaguicidas.pdf>
- Instituto Nacional de Estadísticas y Censos, INEC. (2012). Recuperado el 12 de 3 de 2014, de <http://www.ecuadorencifras.gob.ec/wp-content/descargas/Presentaciones/Plaguicidas.pdf>
- Instituto Nacional Ecuatoriano de Normalización, INEN. 1108. (2011). Recuperado el 26 de 8 de 2013, de <http://normaspdf.inen.gob.ec/pdf/nte/1108-5.pdf>
- Jarrín, M. B. (2011). *Análisis de Pesticidas Organofosforados en Agua Mediante Cromatografía de Gases*. Sangolqui, Pichincha, Ecuador: Escuela Politécnica del Ejército.
- Liga Ciudadana de Defensa de los Consumidores de Chile. (2010). Recuperado el 1 de 8 de 2013, de [http://www.rap-al.org/news\\_files/Informe\\_tecnico\\_pesticidas\\_LCC.pdf](http://www.rap-al.org/news_files/Informe_tecnico_pesticidas_LCC.pdf)
- Ministerio del Ambiente. (2011). *Inventario de Plaguicidas COPs en el Ecuador*. Quito, Pichincha, Ecuador: Escuela Superior Politécnica del Litoral.
- Miranda, A., & Martín, O. (2013). *Universidad Complutense Madrid*. Recuperado el 8 de 1 de 2015, de <http://www.ucm.es/data/cont/docs/650-2013-12-02-gases%20fid.pdf>
- Molina, S. (2013). *Productos del Aire*, pdf. Recuperado el 10 de 01 de 2015, de <http://www.productosdelaire.com/index.php/Aplicaciones-y-Casos/identificacion-de-cargas-de-helio-nitrogeno-y-argon-en-cilindros-sin-etiqueta-de-identificacion.html>
- Murillo, I. A. (2012). *Análisis de los gases combustibles de las plantas parsons y universal que actualmente se queman en la Tea de Rl, mediante pruebas de laboratorio para identificar su utilidad y reemplazar el diesel que utilizan los generadores eléctricos*. Quito, Pichincha, Ecuador: Universidad Tecnológica Equinoccial.

- Mosquera, D. (2012). *Estandarización de un método para cuantificación de pesticidas organoclorados y fosforados en suelos por cromatografía de gases con detectores FIT y ECD*. Risaralda, Pereira, Colombia: Universidad Tecnológica de Pereira.
- Official Methods of Analysis of International, AOAC. (2005). 18 th Edition, Appendix E: Laboratory Quality Assurance.
- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. FAO. (2014). Recuperado el 18 de 8 de 2012, de <http://www.fao.org/docrep/w5975s/w5975s08.htm>
- Organización Mundial de la Salud, OMS. (2014). Recuperado el 25 de 2 de 2014, de [http://www.who.int/occupational\\_health/publications/es/pwh1sp.pdf](http://www.who.int/occupational_health/publications/es/pwh1sp.pdf)
- Organización Mundial de la Salud, OMS. (2014). Recuperado el 2 de 9 de 2014, de [http://www.who.int/water\\_sanitation\\_health/dwq/es/](http://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/es/)
- Organización de las Naciones Unidas, ONU. (2014). Recuperado el 28 de 10 de 2014, de <http://www.un.org/spanish/waterforlifedecade/quality.shtml#>
- Organización Panamericana de la Salud, OPS. (2014). *Biblioteca virtual de desarrollo sostenible y salud ambiental*. Recuperado el 25 de 9 de 2014, de <http://www.bvsde.paho.org/bvsacd/eco/033965/033965-02-A1.pdf>
- Organización de las Naciones Unidas, ONU. (2014). Recuperado el 28 de 10 de 2014, de <http://www.un.org/spanish/waterforlifedecade/quality.shtml#>
- Organización Mundial de la Salud (OMS). (2014). <http://www.who.int>. Recuperado el 15 de 5 de 2013, de <http://www.who.int/bulletin/volumes/86/3/07-041814-ab/es/>
- Ovalle, A. (15 de 10 de 2012). *Alvaro Ovalle LabQuim*. Recuperado el 22 de 6 de 2015, de <https://sites.google.com/site/alvaroovallelabquim301/experimentos/extraccion-macro-micro>
- Paez, C., & Montoya , S. (2012). <http://recursosbiblioteca.utp.edu.co/cgi-olib>. (U. T. PEREIRA, Ed.) Recuperado el 18 de 2 de 2014, de <http://recursosbiblioteca.utp.edu.co/tesis/textoyanexos/66028423M798.pdf>
- Párraga, C., & Galarza, J. (2010). *Análisis de la actividad agrícola como contaminante del agua, alternativas tecnológicas para la desinfección del agua para consumo humano en comunidades rurales y recursos legislativos para la prevención y su*

- conservación*. Guayaquil, Guayas, Ecuador: Escuela Superior Politécnica del Litoral.
- Parrales, A., Reyes, M., & Pine, W. (2012). *Comatografía del Gas Natural*. Guayaquil, Guayas, Ecuador: Escuela Superior politécnica del Litoral. Recuperado el 29 de 5 de 2013, de [http://www.cib.espol.edu.ec/Digipath/D\\_Tesis\\_PDF/D-94183.pdf](http://www.cib.espol.edu.ec/Digipath/D_Tesis_PDF/D-94183.pdf)
- Revelo, L. M. (2010). *Metodologías analíticas alternativas para la determinación de plaguicidas en aguas y productos agroalimentarios*. San Cristobal de la Laguna, Tenerife, España: Universidad de la Laguna. Recuperado el 4 de 7 de 2014, de <ftp://tesis.bbtk.ull.es/ccppytec/cp582.pdf>
- Reigart, R., Roberts, J. (2013). *Reconocimiento y manejo de los envenenamientos por pesticidas*. (ata Edición Ed.). A. d. EE.UU. (EPA), Ed.), Pennsylvania, Washington, Estados Unidos.
- Sierra, C. (2011). *Calidad del Agua*. (L. D. López Escobar, Ed.) Medellin, Antioquia, Colombia: Ediciones de la U.
- Sierra, I., Pérez, D., Gómez, S., & Morante, S. (2010). *Análisis Instrumental* (Vol. 1). (L. Bello, Ed.) La Coruña, España: Netbiblo. S. L.
- Subprograma de Proyectos de Investigación, CONSOLIDER. (2010). *Tratamiento y Reutilización de Aguas Residuales para una Gestión Sostenible*. Recuperado el 11 de 12 de 2014, de [http://www.consolidier-tragua.com/documentos/protocolo\\_muestreo\\_analisis.pdf](http://www.consolidier-tragua.com/documentos/protocolo_muestreo_analisis.pdf)
- Tafur, C. (2014). *Validación de un método para análisis de arsénico en agua potable por absorción atómica mediante generación de hidruros*. Ambato, Tungurahua, Ecuador: Universidad Técnica de Ambato.
- Toasa, A. (2012). *Validacion de los metodos de ensayo para fenoles, tensoactivos, solidos suspendidos y total de solidos disueltos (TDS)*. Quito, Pichincha, Ecuador: Universidad Central del Ecuador.
- Torres, R. & Flores, D., (2011). *Control de procesos de energías renovables*. Guayaquil, Guayas, Ecuador: Escuela Superior Poltécnica del Litoral.
- Unión Internacional de Química Pura y Aplicada, IUPAC. (2010). *Sensibilidad* Recuperado el 3 de 8 de 2015, de <http://www.iupac.org/home/about.html>

Zhunaula Mier, A. C. (2011). *Determinación de pesticidas organofosforados en banano (MUSA SAPIENTUM) mediante Cromatografía de Gases*. Sangolqui, Pichincha, Ecuador: Escuela Politécnica del Ejercito. Recuperado el 2 de 12 de 2014, de <http://repositorio.espe.edu.ec/bitstream/21000/4291/1/T-ESPE-032639.pdf>

## GLOSARIO

**Analito:** Sustancia (química, física o biológica) buscada o determinada en una muestra, que debe ser recuperada, detectada o cuantificada por el método.

**Calibración:** Procedimiento de comparación entre lo que indica un instrumento y su "valor verdadero" de acuerdo a un patrón de referencia con valor conocido.

**Coefficiente de correlación:** Medida de la relación lineal entre dos variables aleatorias cuantitativas.

**Coefficiente de determinación:** Modelo estadístico cuyo principal propósito es predecir futuros resultados o probar una hipótesis.

**Control de calidad:** Mecanismos, acciones, herramientas realizadas para detectar la presencia de errores.

**Corrida analítica:** Conjunto de muestras analizadas en forma continua, bajo las mismas condiciones experimentales.

**Cromatógrafo:** Equipo que permite una separación sofisticada (Ej.: cromatógrafo de gases o un cromatógrafo de líquidos).

**Curva de calibración:** Conjunto de concentraciones que describen el rango en el cual se cuantifica el compuesto por analizar.

**Disolvente o solvente:** Sustancia en la que se diluye un soluto (un sólido, líquido o gas químicamente diferente).

**Elución:** Proceso en el cual los solutos son lavados a través de una fase estacionaria por el movimiento de una fase móvil.

**Fungicidas:** Sustancias tóxicas que se emplean para impedir el crecimiento o eliminar los hongos y mohos perjudiciales para las plantas, los animales o el hombre.

**Herbicida:** Producto fitosanitario utilizado para eliminar plantas indeseadas

**Incertidumbre:** Parámetro asociado al resultado de una medición que caracteriza la dispersión de los valores que podrían razonablemente ser atribuidos al mensurando.

**Incertidumbre de la medición:** Parámetro no negativo que caracteriza la dispersión de la cantidad de valores que se atribuyen a una mensurando, basándose en la información utilizada.

**Insecticida:** Compuesto químico utilizado para matar insectos.

**Metodología:** Conjunto de métodos que se siguen en una investigación científica, un estudio o una exposición doctrinal.



**Método cuantitativo:** Método que permite determinar la concentración de un analito presente en una muestra o matriz.

**Micropipeta:** Instrumento de laboratorio empleado para succionar y transferir pequeños volúmenes de líquidos y permitir su manejo en las distintas técnicas analíticas.

**Muestra:** Materia que va a ser analizada en la cromatografía. Puede consistir en un simple componente o una mezcla de varios.

**Norma:** Principio que se impone o se adopta para dirigir la conducta o la correcta realización de una acción o el correcto desarrollo de una actividad.

**Parámetro estadístico:** Es un número que resume la gran cantidad de datos que pueden derivarse del estudio de una variable estadística. El cálculo de este número está bien definido, usualmente mediante una fórmula aritmética obtenida a partir de datos de la población.

**Policlorobifenilos (PCBs):** Compuestos organoclorados que se forman mediante la cloración de diferentes posiciones del bifenilo.

**Patrón:** Disolución de una sustancia utilizada como referencia al momento de hacer una valoración o estandarización

**Rango:** Intervalo de un método analítico definido por las concentraciones comprendidas entre los niveles superior e inferior del compuesto.

**Regresión lineal:** Técnica que permite cuantificar la relación que puede ser observada cuando se grafica un diagrama de puntos dispersos correspondientes a dos variables, cuya tendencia general es rectilínea.

**Tiempo de retención:** Tiempo característico que tarda un analito particular en pasar a través del sistema (desde la columna de entrada hasta el detector) bajo las condiciones fijadas.

**Validación:** Verificación de determinados parámetros de un método, en la que los requisitos especificados para estos, demuestran que el método es idóneo para un uso previsto.

**Varianza:** Medida de dispersión definida como la esperanza del cuadrado de la desviación de dicha variable respecto a su media.

**Variable:** Propiedad que puede fluctuar y cuya variación es susceptible de adoptar diferentes valores, los cuales pueden medirse u observarse.

## **ABREVIATURAS**

**AC:** Acetilcolina.

**ACE:** Acetilcolinesteraza.

**ACN:** Acetonitrilo.

**ANOVA:** Análisis de varianza.

**BPC:** Cromatografía de fases enlazadas.

**CA:** Cromatografía de afinidad.

**CONSEP:** Consejo Nacional de Control de Sustancias Estupefacientes y Psicotrópicas.

**CRM:** Material de referencia Certificado.

**CV:** Coeficiente de variación.

**DDD:** 1,1-dicloro-2,2-bis(4-clorofenil)etano.

**DDE:** 1,1-dicloro-2,2-bis(4-clorofenil)etileno.

**DDT:** 1,1,1-tricloro-2,2-bis(4-clorofenil)etano.

**ECD:** Detector de captura electrónica.

**EPA:** Agencia de Protección Medioambiental de los Estados Unidos.

**EMAPA-I:** Empresa Municipal de Alcantarillado y Agua Potable.

**FAO:** Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación.

**GC:** Cromatografía de gases.

**GLC:** Cromatografía gas-liquido.

**GSC:** Cromatografía gas-liquido.

**IEC:** Cromatografía de intercambio iónico.

**INEC:** Instituto Nacional Ecuatoriano de Normalización.

**ISO:** Organización Internacional de Normalización.

**HPLC:** Cromatografía líquida de alta eficacia.

**HTLC:** Cromatografía de capa fina de alta resolución.

**LC:** Cromatografía de líquidos.

**LC o LOQ:** Límite de cuantificación.

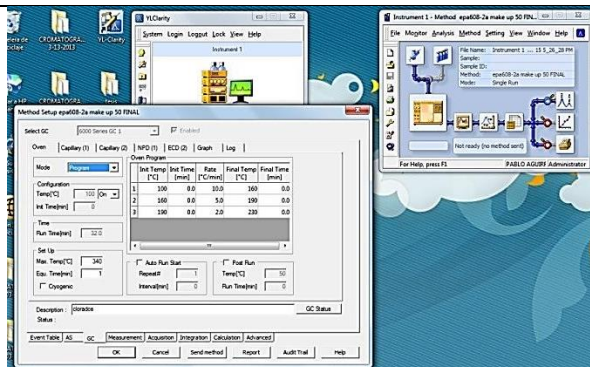
- LD o LOD:** Límite de detección.
- LLE:** Extracción líquido-líquido.
- LLC:** Cromatografía líquido-líquido.
- LMP:** Límite máximo permitido.
- LSC:** Cromatografía líquido-sólido.
- MS:** Espectrometría de masas.
- OMS:** Organización Mundial de la Salud.
- ONU:** Organización de las Naciones Unidas.
- Ppb:** partes por billón ug/l.
- Ppm:** partes por millón mg/l.
- RSD:** Desviación estándar relativa.
- SEC:** Cromatografía de exclusión por tamaños.
- SD:** Desviación estándar.
- SFC:** Cromatografía de fluidos supercríticos.
- SPE:** Extracción en fase sólida.
- SPME:** Microextracción en fase sólida.
- S/R:** Relación señal ruido.
- TLC:** Cromatografía en capa fina.
- USP:** Farmacopea de Estados Unidos.

## **ANEXO A.**

- **FOTOS**



**Ajustar el software, previo al análisis de las muestras en el cromatógrafo de gases.**



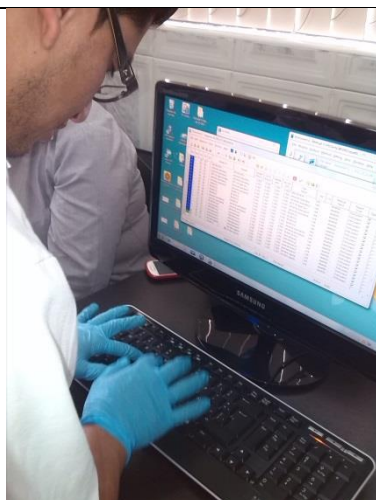
**Rampas de temperatura del horno, detector de captura de electrones, tipo de inyección, flujo del gas, volumen de inyección, entre otras.**



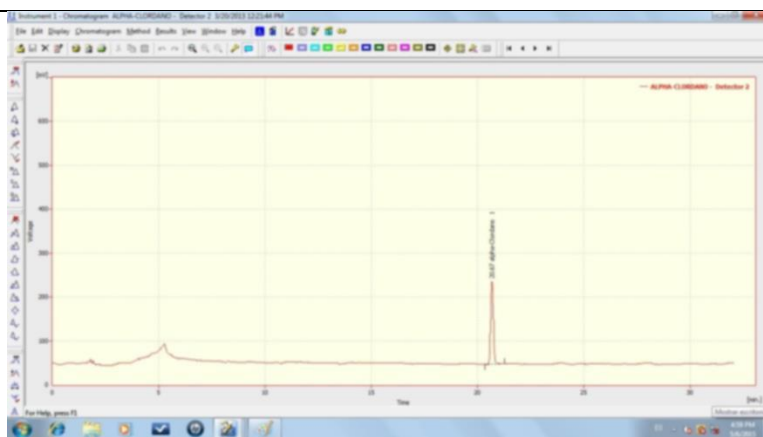
**Preparar los patrones de los estándares de plaguicidas organoclorados, en sus distintas concentraciones.**



**Patrones de los estándares 4,4'-DDT; 4,4'-DDD y 4,4'-DDE.**



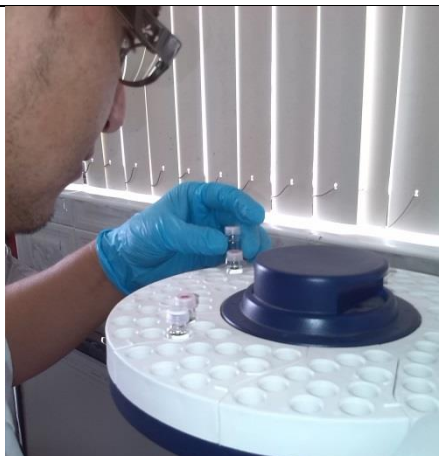
**Programar las corridas de los estándares para las curvas de calibración.**



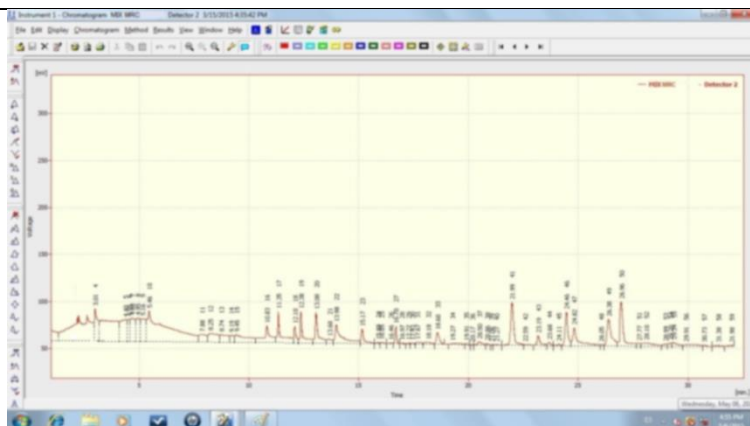
**Resultados de las áreas (tamaño de los picos) de los analitos en el cromatograma.**



**Extracción en fase sólida (SPE) del material de referencia certificado (CRM) previo al análisis cromatográfico de comprobación.**



**Programar la inyección adecuada del material de referencia recuperado en hexano, previo a las corridas cromatográficas.**



**Resultados aceptables del material de referencia certificado (CRM)**

## **ANEXO B.**

- **FICHAS TÉCNICAS PLAGUICIDAS  
ORGANOCOLORADOS Y CRM.**
- **FORMATO CONSEP (consumo de solventes orgánicos).**





A Waters Company

## Certificate of Analysis

Lot No. 330712  
Expiration Date:<sup>1</sup> 08/2017

## Water Pollution Organochlorine Pesticides

Catalog No. 713  
Issue Date: August 20, 2014  
Revision: Original

## Certification

Parameter	Certified Value <sup>2</sup>	Uncertainty <sup>3</sup>	QC Performance Acceptance Limits <sup>4</sup>	PT Performance Acceptance Limits <sup>5</sup>
	µg/L	%	µg/L	µg/L
Aldrin	3.93	1.7	1.12 - 4.18	0.36 - 5.05
alpha-BHC	1.19	0.93	0.20 - 3.71	0.04 - 4.20
beta-BHC	3.20	1.2	1.08 - 4.19	0.27 - 5.01
delta-BHC	3.20	0.94	1.10 - 4.54	0.71 - 5.01
gamma-BHC(Lindane)	2.06	1.1	1.53 - 3.27	0.63 - 4.53
alpha-Chlordane	1.42	1.1	0.83 - 2.72	0.05 - 3.07
gamma-Chlordane	2.96	1.1	0.89 - 3.84	0.05 - 4.43
4,4'-DDD	1.35	0.5	0.13 - 2.72	0.08 - 3.61
4,4'-DDE	1.15	1.0	0.06 - 2.61	0.06 - 3.24
4,4'-DDT	1.47	0.5	0.43 - 3.84	0.04 - 4.28
Dieldrin	1.64	1.1	0.97 - 2.72	0.02 - 4.45
Endrin	1.96	1.4	0.76 - 2.85	0.07 - 3.54
Endrin aldehyde	3.23	1.2	1.54 - 4.67	0.18 - 5.83
Endrin ketone	2.62	1.6	1.09 - 4.15	0.29 - 5.47
Endosulfan I	<1.83	-	-	-
Endosulfan II	<1.4	-	-	-
Endosulfan sulfate	5.02	1.2	3.26 - 7.67	1.19 - 8.10
Heptachlor	1.65	1.4	0.80 - 2.59	0.09 - 4.03
Heptachlor epoxide (beta)	1.58	1.1	0.22 - 3.47	0.04 - 4.05
Methoxychlor	5.01	1.1	3.63 - 7.35	1.70 - 8.15

1. The certified values are monitored and purchasers will be notified of any significant changes resulting in recertification or withdrawal of this certified reference material during the period of validity of this certificate.

2. The Certified Values are the actual 'made-to' concentrations confirmed by ERA analytical verification.

3. The stated uncertainty is the total propagated uncertainty at the 95% confidence interval. The uncertainty is based on the preparation and internal verification of the product by ERA, multiplied by a coverage factor which is equal to the Student t factor at a 95% confidence interval at n-1 degrees of freedom. The uncertainty applies to the product as supplied and does not take into account any required or optional dilutions and/or preparations the laboratory may perform while using this product.

4. The QC Performance Acceptance Limits (QC PALs™) are based on actual historical data collected in ERA's Proficiency Testing program. The QC PALs™ reflect any inherent biases in the methods used to establish the limits and closely approximate a 95% confidence interval of the performance that experienced laboratories should achieve using accepted environmental methods. Use the QC PALs™ to realistically evaluate your performance against your peers.

5. The PT Performance Acceptance Limits (PT PALs™) are calculated using the regression equations and fixed acceptance criteria specified in the USEPA National Standards Criteria Document and/or the NELAC proficiency testing requirements. Use the PT PALs™ when analyzing this QC standard alongside USEPA and NELAC compliant PT standards. Please note that many PT study acceptance limits are concentration dependent (some non-linearly) and, therefore, the acceptance limits of this QC standard and any PT standard may differ relative to their difference in concentrations.



REFERENCE MATERIAL PRODUCER  
CERT # 1539.03



A Waters Company



Instructions for Catalog # 713  
Organochlorine Pesticides

Revision 100411

**Description:**

- This standard is packaged in a 2 mL flame-sealed ampule containing approximately 2 mL of standard concentrate.
- This concentrate is not preserved.
- The solvent for this concentrate is Methanol.
- The concentrate should be stored at  $4\pm 2^{\circ}\text{C}$ .
- This product is intended to be used as a quality control check of the entire analytical process for the analytes/matrix included in the standard.
- The dilution instructions below represent the minimum suggested sample size for this product. Using a smaller sample size may invalidate the assigned value and/or uncertainty shown on the certificate of analysis.
- The diluted standard will contain a subset of the analytes listed in the ERA catalog in the range of 0.5 to 20  $\mu\text{g/L}$ .

**Helpful Hints:**

- This standard has been prepared as a concentrate and must be diluted prior to analysis.
- This standard should be analyzed as soon as possible after the concentrate is diluted.

**Instructions:**

1. Add 100 - 200 mL of organic free, deionized water to a clean 1000 mL class A volumetric flask.
2. Carefully snap the top off of the Organochlorine Pesticides ampule.
3. Using a clean, dry, class A pipet or a syringe, transfer 1.0 mL of the concentrate into the 1000 mL volumetric flask.
4. Dilute the flask to final volume with organic free, deionized water.
5. Cap the flask and mix well.
6. Immediately analyze the diluted sample by your normal procedures.

**Safety:**

ERA products may be hazardous and are intended for use by professional laboratory personnel trained in the competent handling of such materials. Responsibility for the safe use of these products rests entirely with the buyer and/or user. Material Safety Data Sheets (MSDS) for all ERA products are available by calling 1-800-372-0122.

# Certificate of Analysis

Dr. Ehrenstorfer

Reference Materials for  
Residue Analysis

## Product Identification

12082000 4,4'-DDT

CA Benzene,1,1'-(2,2,2-trichloroethylidene)bis[4-chloro-

IUPAC 1,1,1-Trichloro-2,2-bis(4-chlorophenyl)ethane

Formula C<sub>14</sub>H<sub>9</sub>Cl<sub>5</sub>

Mol.Weight 354.49


CAS No. 50-29-3

Expiry Date 22.04.2019

Lot Number 30114

Store at 20 °C ±4 °C

Please note: The expiry date is valid under recommended storage conditions only.

Toxicological Data	Physical Data
 <p>R Code 25-40-47-53 S Code 39-44-46-60-61 LD50 (Rats female/male in mg/kg) 87</p>	<p>Phase crystalline solid Color colourless Melt.Range 107.0 °C</p> <p>Vapour pressure 0.025 mPa at 20 °C Solubility in water NA g/l at °C Boiling Range (lit.)</p>
<h3>Analytical Data</h3> <p>Detection: HPLC/DAD Column: ReproSil 100 C18 5µ 250x3 Inj.-Vol.: 10.00 µl Flow: 1.0 ml/min Ret.-Time: 3.49 min.</p>	<h3>Method Details:</h3> <p>Acetonitrile:H<sub>2</sub>O 9:1</p>
<p>Identity: RT, UV Comment Purity was determined by external standard method. No chromatogram available.</p>	
<p>Water Content 0,0 % Determined by Karl-Fischer Titration Det. Purity 99.5 % Tolerance/Uncertainty +/- 0.5 %</p> <p>The uncertainty/tolerance of this standard is calculated in accordance with the EURACHEM/CITAC Guide - Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement - Second Edition. The uncertainty given is the expanded combined uncertainty and represents an estimated standard deviation equal to the positive square root of the total variance of the uncertainty of components. The expanded uncertainty is U which is Uc(y)*K, where K is the coverage factor at the 95% confidence level (K=2). The expanded uncertainty is based on the combination of uncertainties associated with each individual operation involved in the preparation of this product.</p>	

Certified on 22.04.2013

by A. Storr




The Laboratory Labor Dr. Ehrenstorfer-Schäfers is accredited by DAkkS as indicated by the Accreditation Number D-RM-14174-01 has shown competence based on ISO Guide 34:2009 with relevant parts of DIN EN ISO/IEC 17025:2005 for production of certified reference materials in form of organic pure substances and in form of single and multi-component solutions organic pure substances.

Labor Dr. Ehrenstorfer-Schäfers · Bgm.-Schlosser-Str. 6 A · 86199 Augsburg · Germany

Phone +49 821 906080 · Fax +49 821 9060888 · info@analytical-standards.com

The warranty for this product is limited to the purchasing price of this product.

# Certificate of Analysis

Dr. Ehrenstorfer

Reference Materials for  
Residue Analysis

## Product Identification

12031000 4,4'-DDD

CA 1,1'-(2,2-Dichloroethylidene)bis[4-chlorobenzene]

IUPAC 1,1-Dichloro-2,2-bis(p-chlorophenyl)ethane

Formula C<sub>14</sub>H<sub>10</sub>Cl<sub>4</sub>

Mol.Weight 320.05

CAS No. 72-54-8

Expiry Date 21.04.2017

Lot Number 00908

Store at 20 °C ± 4 °C

Please note: The expiry date is valid under recommended storage conditions only.

## Toxicological Data



R Code 21-25-40-50/53

S Code 36/37-45-60-61

LD50 (Rats female/male in mg/kg) 113

## Physical Data

Phase crystalline solid

Vapour pressure NA at °C

Color colourless

Solubility in water NA g/l at °C

Melt Range 109.1 °C

Boiling Range (lit.)

## Analytical Data

Detection: GC/MSD

Method Details:

Column: DB-5, 30 m, ID 0.25 mm

Injector: 320° C

Inj.-Vol.: 1,00 µl

Start Temperature: 120° C for 4 min

Flow: 1,0 ml/min

End Temperature: 320° C for 5 min

Ret.-Time: 14,57 min.

Gradient: 15° C/min

Identity: MS, UV, RT

Comment Purity was confirmed by external standard method.

Water Content 0,0 % Determined by Karl-Fischer Titration

Det. Purity 99,5 % Tolerance/Uncertainty +/- 0,5 %

The uncertainty/tolerance of this standard is calculated in accordance with the EURACHEM/CITAC Guide - Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement - Second Edition. The uncertainty given is the expanded combined uncertainty and represents an estimated standard deviation equal to the positive square root of the total variance of the uncertainty of components. The expanded uncertainty is U which is Uc(y)K, where K is the coverage factor at the 95% confidence level (K=2). The expanded uncertainty is based on the combination of uncertainties associated with each individual operation involved in the preparation of this product.

Certified on 21.04.2011

by Dipl.chem. J. Nöth

Authorized copy  
from the original

G.S. No. 0014

Sign:



The Laboratory Labor Dr. Ehrenstorfer-Schäfers is accredited by DGA as indicated by the Accreditation Certificate DGA-PL-4536.00 based on DIN EN ISO/IEC 17025:2005 for the weighing of amounts of substances for the preparation of standard solutions.

Labor Dr. Ehrenstorfer-Schäfers · Bgm. · Schlosser-Str. 5 A · 86199 Augsburg · Germany  
Phone +49 821 906080 Fax +49 821 9060888 info@analytical-standards.com

The warranty for this product is limited to the purchasing price of this product.



DGA-PL-4536.00

# Certificate of Analysis

Dr. Ehrenstorfer

Reference Materials for  
Residue Analysis

## Product Identification

12082000 4,4'-DDT

CA Benzene,1,1'-(2,2,2-trichloroethyidene)bis[4-chloro-

IUPAC 1,1,1-Trichloro-2,2-bis(4-chlorophenyl)ethane

Formula C<sub>14</sub>H<sub>9</sub>Cl<sub>5</sub>

Mol.Weight 354.49


CAS No. 50-29-3

Expiry Date 22.04.2019

Lot Number 30114

Store at 20 °C ± 4 °C

Please note: The expiry date is valid under recommended storage conditions only.

Toxicological Data	Physical Data
 <p>R Code 25-40-47-53 S Code 39-44-46-60-61 LD50 (Rats female/male in mg/kg) 87</p>	<p>Phase crystalline solid Color colourless Melt.Range 107.0 °C</p> <p>Vapour pressure 0.025 mPa at 20 °C Solubility in water NA g/l at °C Boiling Range (lit.)</p>
<h3>Analytical Data</h3> <p>Detection: HPLC/DAD Column: ReproSil 100 C18 5µ 250x3 Inj.-Vol.: 10.00 µl Flow: 1.0 ml/min Ret.-Time: 3.49 min.</p> <p>Method Details: Acetonitrile:H<sub>2</sub>O 9:1</p>	
<p>Identity: RT, UV Comment Purity was determined by external standard method. No chromatogram available.</p>	
<p>Water Content 0.0 % Determined by Karl-Fischer Titration Det. Purity 99.5 % Tolerance/Uncertainty +/- 0.5 %</p> <p>The uncertainty/tolerance of this standard is calculated in accordance with the EURACHEM/CITAC Guide - Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement - Second Edition. The uncertainty given is the expanded combined uncertainty and represents an estimated standard deviation equal to the positive square root of the total variance of the uncertainty of components. The expanded uncertainty is U which is Uc(y)*K, where K is the coverage factor at the 95% confidence level (K=2). The expanded uncertainty is based on the combination of uncertainties associated with each individual operation involved in the preparation of this product.</p>	

Certified on 22.04.2013

by A. Storr




The Laboratory Labor Dr. Ehrenstorfer-Schäfers is accredited by DAkkS as indicated by the Accreditation Number D-RM-14174-01 has shown competence based on ISO Guide 34:2009 with relevant parts of DIN EN ISO/IEC 17025:2005 for production of certified reference materials in form of organic pure substances and in form of single and multi-component solutions organic pure substances.

Labor Dr. Ehrenstorfer-Schäfers · Bgm.-Schlosser-Str. 6 A · 86199 Augsburg · Germany

Phone +49 821 906080 · Fax +49 821 9060888 · info@analytical-standards.com

The warranty for this product is limited to the purchasing price of this product.



## MOVIMIENTOS ANUALES SUSTANCIAS

Fecha Reporte: 2014/09/10

Hora: 06:02 PM

Pág. 1

**Empresa :** EMPRESA PUBLICA MUNICIPAL DE AGUA POTALBE Y

<b>Sustancia:</b>	<b>Año:</b>	<b>Mes:</b>	<b>Cupo Inicial:</b>	<b>Cupo Final+Amp:</b>	<b>Saldo Inicial:</b>	<b>Saldo Final:</b>
ACETATO DE ETILO G.R.	2014	8	4,000.0000	4,000.0000	4,000.0000	4,000.0000

Transacción	# de Doc.	Nombre Entidad / # del permiso	Ingresos	Egresos
No existe movimiento	1-31	EMPRESA PUBLICA MUNICIPAL DE AGUA POTALBE Y ALCAN	.0000	.0000

**TOTAL:**

**TOTAL GENERAL:**

.0000

<b>Sustancia:</b>	<b>Año:</b>	<b>Mes:</b>	<b>Cupo Inicial:</b>	<b>Cupo Final+Amp:</b>	<b>Saldo Inicial:</b>	<b>Saldo Final:</b>
ACETONA G.R.	2014	8	12,000.0000	12,000.0000	11,750.0000	11,250.0000

Transacción	# de Doc.	Nombre Entidad / # del permiso	Ingresos	Egresos
No existe movimiento	1-31	EMPRESA PUBLICA MUNICIPAL DE AGUA POTALBE Y ALCAN	.0000	500.0000

**TOTAL:**

**TOTAL GENERAL:**

500.0000

500.0000

<b>Sustancia:</b>	<b>Año:</b>	<b>Mes:</b>	<b>Cupo Inicial:</b>	<b>Cupo Final+Amp:</b>	<b>Saldo Inicial:</b>	<b>Saldo Final:</b>
ACIDO ACETICO G.R.	2014	8	2,500.0000	2,500.0000	2,000.0000	2,000.0000

Transacción	# de Doc.	Nombre Entidad / # del permiso	Ingresos	Egresos
No existe movimiento	1-31	EMPRESA PUBLICA MUNICIPAL DE AGUA POTALBE Y ALCAN	.0000	.0000

**TOTAL:**

**TOTAL GENERAL:**

.0000

.0000

<b>Sustancia:</b>	<b>Año:</b>	<b>Mes:</b>	<b>Cupo Inicial:</b>	<b>Cupo Final+Amp:</b>	<b>Saldo Inicial:</b>	<b>Saldo Final:</b>
ACIDO CLORHIDRICO G.R.	2014	8	10,000.0000	10,000.0000	7,250.0000	7,126.0000

Transacción	# de Doc.	Nombre Entidad / # del permiso	Ingresos	Egresos
Consumo	1-31	EMPRESA PUBLICA MUNICIPAL DE AGUA POTALBE Y ALCAN	.0000	124.0000

**TOTAL:**

**TOTAL GENERAL:**

124.0000

124.0000

<b>Sustancia:</b>	<b>Año:</b>	<b>Mes:</b>	<b>Cupo Inicial:</b>	<b>Cupo Final+Amp:</b>	<b>Saldo Inicial:</b>	<b>Saldo Final:</b>
ACIDO SULFURICO G.R.	2014	8	17,000.0000	17,000.0000	14,500.0000	14,500.0000

Transacción	# de Doc.	Nombre Entidad / # del permiso	Ingresos	Egresos
No existe movimiento	1-31	EMPRESA PUBLICA MUNICIPAL DE AGUA POTALBE Y ALCAN	.0000	.0000

**TOTAL:**

**TOTAL GENERAL:**

.0000

.0000

<b>Sustancia:</b>	<b>Año:</b>	<b>Mes:</b>	<b>Cupo Inicial:</b>	<b>Cupo Final+Amp:</b>	<b>Saldo Inicial:</b>	<b>Saldo Final:</b>
AMONIA CO LIQUIDO G. R.	2014	8	1,600.0000	1,600.0000	5,705.0000	5,601.0000

Transacción	# de Doc.	Nombre Entidad / # del permiso	Ingresos	Egresos
Consumo	1-31	EMPRESA PUBLICA MUNICIPAL DE AGUA POTALBE Y ALCAN	.0000	104.0000

**TOTAL:**

**TOTAL GENERAL:**

104.0000

104.0000

<b>Sustancia:</b>	<b>Año:</b>	<b>Mes:</b>	<b>Cupo Inicial:</b>	<b>Cupo Final+Amp:</b>	<b>Saldo Inicial:</b>	<b>Saldo Final:</b>
CLORURO DE CALCIO G.R.	2014	8	250.0000	250.0000	.0000	.0000

Transacción	# de Doc.	Nombre Entidad / # del permiso	Ingresos	Egresos
No existe movimiento	1-31	EMPRESA PUBLICA MUNICIPAL DE AGUA POTALBE Y ALCAN	.0000	.0000

**TOTAL:**

**TOTAL GENERAL:**

.0000

.0000



## MOVIMIENTOS ANUALES SUSTANCIAS

Fecha Reporte: 2014/09/10

Hora: 06:02 PM

Pág. 2

**Empresa :** EMPRESA PUBLICA MUNICIPAL DE AGUA POTALBE Y /

Sustancia:	Año:	Mes:	Cupo Inicial:	Cupo Final+Amp:	Saldo Inicial:	Saldo Final:
DICLOROMETANO G. R.	2014	8	1,000.0000	1,000.0000	3,000.0000	3,000.0000
Transacción	# de Doc.	Nombre Entidad / # del permiso			Ingresos	Egresos
No existe movimiento	1-31	EMPRESA PUBLICA MUNICIPAL DE AGUA POTALBE Y ALCAN				.0000
<b>TOTAL:</b>						.0000
<b>TOTAL GENERAL:</b>						.0000

Sustancia:	Año:	Mes:	Cupo Inicial:	Cupo Final+Amp:	Saldo Inicial:	Saldo Final:
HEXANO G.R.	2014	8	4,000.0000	4,000.0000	3,750.0000	3,650.0000
Transacción	# de Doc.	Nombre Entidad / # del permiso			Ingresos	Egresos
Consumo	1-31	EMPRESA PUBLICA MUNICIPAL DE AGUA POTALBE Y ALCAN				100.0000
<b>TOTAL:</b>						100.0000
<b>TOTAL GENERAL:</b>						100.0000

Sustancia:	Año:	Mes:	Cupo Inicial:	Cupo Final+Amp:	Saldo Inicial:	Saldo Final:
HIDROXIDO DE POTASIO G.R.	2014	8	500.0000	500.0000	.0000	.0000
Transacción	# de Doc.	Nombre Entidad / # del permiso			Ingresos	Egresos
No existe movimiento	1-31	EMPRESA PUBLICA MUNICIPAL DE AGUA POTALBE Y ALCAN				.0000
<b>TOTAL:</b>						.0000
<b>TOTAL GENERAL:</b>						.0000

Sustancia:	Año:	Mes:	Cupo Inicial:	Cupo Final+Amp:	Saldo Inicial:	Saldo Final:
HIDROXIDO DE SODIO G.R.	2014	8	500.0000	500.0000	979.0000	955.5000
Transacción	# de Doc.	Nombre Entidad / # del permiso			Ingresos	Egresos
Consumo	1-31	EMPRESA PUBLICA MUNICIPAL DE AGUA POTALBE Y ALCAN				23.5000
<b>TOTAL:</b>						23.5000
<b>TOTAL GENERAL:</b>						23.5000

Sustancia:	Año:	Mes:	Cupo Inicial:	Cupo Final+Amp:	Saldo Inicial:	Saldo Final:
PERMANGANATO DE POTASIO G.R.	2014	8	1,000.0000	1,000.0000	900.0000	900.0000
Transacción	# de Doc.	Nombre Entidad / # del permiso			Ingresos	Egresos
No existe movimiento	1-31	EMPRESA PUBLICA MUNICIPAL DE AGUA POTALBE Y ALCAN				.0000
<b>TOTAL:</b>						.0000
<b>TOTAL GENERAL:</b>						.0000

Sustancia:	Año:	Mes:	Cupo Inicial:	Cupo Final+Amp:	Saldo Inicial:	Saldo Final:
SULFATO DE SODIO G. R.	2014	8	1,000.0000	1,000.0000	900.0000	890.0000
Transacción	# de Doc.	Nombre Entidad / # del permiso			Ingresos	Egresos
Consumo	1-31	EMPRESA PUBLICA MUNICIPAL DE AGUA POTALBE Y ALCAN				10.0000
<b>TOTAL:</b>						10.0000
<b>TOTAL GENERAL:</b>						10.0000



## MOVIMIENTOS ANUALES SUSTANCIAS

Fecha Reporte: 2014/11/10

Hora: 12:30 PM

Pág. 2

**Empresa :** EMPRESA PUBLICA MUNICIPAL DE AGUA POTABLE Y

Sustancia: **DICLOROMETANO G. R.** Año: 2014 Mes: 10 Cupo Inicial: 1,000.0000 Cupo Final+Amp: 1,000.0000 Saldo Inicial: 3,000.0000 Saldo Final: 2,945.0000

Transacción	# de Doc.	Nombre Entidad / # del permiso	Ingresos	Egresos
Consumo	1-31	EMPRESA PUBLICA MUNICIPAL DE AGUA POTABLE Y ALCAN		55.0000
<b>TOTAL:</b>				55.0000
<b>TOTAL GENERAL:</b>				55.0000

Sustancia: **HEXANO G.R.** Año: 2014 Mes: 10 Cupo Inicial: 4,000.0000 Cupo Final+Amp: 4,000.0000 Saldo Inicial: 3,650.0000 Saldo Final: 3,434.0000

Transacción	# de Doc.	Nombre Entidad / # del permiso	Ingresos	Egresos
Consumo	1-31	EMPRESA PUBLICA MUNICIPAL DE AGUA POTABLE Y ALCAN		216.0000
<b>TOTAL:</b>				216.0000
<b>TOTAL GENERAL:</b>				216.0000

Sustancia: **HIDROXIDO DE POTASIO G.R.** Año: 2014 Mes: 10 Cupo Inicial: 500.0000 Cupo Final+Amp: 500.0000 Saldo Inicial: .0000 Saldo Final: .0000

Transacción	# de Doc.	Nombre Entidad / # del permiso	Ingresos	Egresos
No existe movimiento	1-31	EMPRESA PUBLICA MUNICIPAL DE AGUA POTABLE Y ALCAN		.0000
<b>TOTAL:</b>				.0000
<b>TOTAL GENERAL:</b>				.0000

Sustancia: **HIDROXIDO DE SODIO G.R.** Año: 2014 Mes: 10 Cupo Inicial: 500.0000 Cupo Final+Amp: 500.0000 Saldo Inicial: 942.5000 Saldo Final: 935.0500

Transacción	# de Doc.	Nombre Entidad / # del permiso	Ingresos	Egresos
Consumo	1-31	EMPRESA PUBLICA MUNICIPAL DE AGUA POTABLE Y ALCAN		7.4500
<b>TOTAL:</b>				7.4500
<b>TOTAL GENERAL:</b>				7.4500

Sustancia: **PERMANGANATO DE POTASIO G.R.** Año: 2014 Mes: 10 Cupo Inicial: 1,000.0000 Cupo Final+Amp: 1,000.0000 Saldo Inicial: 900.0000 Saldo Final: 900.0000

Transacción	# de Doc.	Nombre Entidad / # del permiso	Ingresos	Egresos
No existe movimiento	1-31	EMPRESA PUBLICA MUNICIPAL DE AGUA POTABLE Y ALCAN		.0000
<b>TOTAL:</b>				.0000
<b>TOTAL GENERAL:</b>				.0000

Sustancia: **SULFATO DE SODIO G. R.** Año: 2014 Mes: 10 Cupo Inicial: 1,000.0000 Cupo Final+Amp: 1,000.0000 Saldo Inicial: 890.0000 Saldo Final: 890.0000

Transacción	# de Doc.	Nombre Entidad / # del permiso	Ingresos	Egresos
No existe movimiento	1-31	EMPRESA PUBLICA MUNICIPAL DE AGUA POTABLE Y ALCAN		.0000
<b>TOTAL:</b>				.0000
<b>TOTAL GENERAL:</b>				.0000





## MOVIMIENTOS ANUALES SUSTANCIAS

Fecha Reporte: 2014/12/10

Hora: 11:26 PM

Pág. 2

**Empresa :** EMPRESA PUBLICA MUNICIPAL DE AGUA POTABLE Y /

Sustancia:	Año:	Mes:	Cupo Inicial:	Cupo Final+Amp:	Saldo Inicial:	Saldo Final:
DICLOROMETANO G. R.	2014	11	1,000.0000	1,000.0000	2,945.0000	2,945.0000
Transacción	# de Doc.	Nombre Entidad / # del permiso			Ingresos	Egresos
No existe movimiento	1-31	EMPRESA PUBLICA MUNICIPAL DE AGUA POTABLE Y ALCAN				.0000
<b>TOTAL:</b>						.0000
<b>TOTAL GENERAL:</b>						.0000

Sustancia:	Año:	Mes:	Cupo Inicial:	Cupo Final+Amp:	Saldo Inicial:	Saldo Final:
HEXANO G.R.	2014	11	4,000.0000	4,000.0000	3,434.0000	3,335.0000
Transacción	# de Doc.	Nombre Entidad / # del permiso			Ingresos	Egresos
Consumo	1-31	EMPRESA PUBLICA MUNICIPAL DE AGUA POTABLE Y ALCAN				99.0000
<b>TOTAL:</b>						99.0000
<b>TOTAL GENERAL:</b>						99.0000

Sustancia:	Año:	Mes:	Cupo Inicial:	Cupo Final+Amp:	Saldo Inicial:	Saldo Final:
HIDROXIDO DE POTASIO G.R.	2014	11	500.0000	500.0000	.0000	.0000
Transacción	# de Doc.	Nombre Entidad / # del permiso			Ingresos	Egresos
No existe movimiento	1-31	EMPRESA PUBLICA MUNICIPAL DE AGUA POTABLE Y ALCAN				.0000
<b>TOTAL:</b>						.0000
<b>TOTAL GENERAL:</b>						.0000

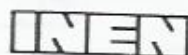
Sustancia:	Año:	Mes:	Cupo Inicial:	Cupo Final+Amp:	Saldo Inicial:	Saldo Final:
HIDROXIDO DE SODIO G.R.	2014	11	500.0000	500.0000	935.0500	925.0500
Transacción	# de Doc.	Nombre Entidad / # del permiso			Ingresos	Egresos
Consumo	1-31	EMPRESA PUBLICA MUNICIPAL DE AGUA POTABLE Y ALCAN				10.0000
<b>TOTAL:</b>						10.0000
<b>TOTAL GENERAL:</b>						10.0000

Sustancia:	Año:	Mes:	Cupo Inicial:	Cupo Final+Amp:	Saldo Inicial:	Saldo Final:
PERMANGANATO DE POTASIO G.R.	2014	11	1,000.0000	1,000.0000	900.0000	900.0000
Transacción	# de Doc.	Nombre Entidad / # del permiso			Ingresos	Egresos
No existe movimiento	1-31	EMPRESA PUBLICA MUNICIPAL DE AGUA POTABLE Y ALCAN				.0000
<b>TOTAL:</b>						.0000
<b>TOTAL GENERAL:</b>						.0000

Sustancia:	Año:	Mes:	Cupo Inicial:	Cupo Final+Amp:	Saldo Inicial:	Saldo Final:
SULFATO DE SODIO G. R.	2014	11	1,000.0000	1,000.0000	890.0000	890.0000
Transacción	# de Doc.	Nombre Entidad / # del permiso			Ingresos	Egresos
No existe movimiento	1-31	EMPRESA PUBLICA MUNICIPAL DE AGUA POTABLE Y ALCAN				.0000
<b>TOTAL:</b>						.0000
<b>TOTAL GENERAL:</b>						.0000

## **ANEXO C.**

- **NORMA INEN 1108-2011.**
- **LISTADO DE PLAGUICIDAS PROHIBIDOS EN EL ECUADOR.**
- **TABLA t DE STUDENT.**
- **TABLA PRUEBA DE F**



# INSTITUTO ECUATORIANO DE NORMALIZACIÓN

Quito - Ecuador

---

**NORMA TÉCNICA ECUATORIANA**

**NTE INEN 1 108:2011**  
**Cuarta revisión**

---

## **AGUA POTABLE. REQUISITOS.**

**Primera Edición**

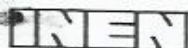
**DRINKING WATER. REQUIREMENTS.**

**Second Edition**

---

**DESCRIPTORES:** Protección ambiental y sanitaria, seguridad, calidad del agua, agua potable, requisitos.  
**AL** 01.06-401  
**CDU:** 628.1.033  
**CIU:** 4200  
**ICS:** 13.060.20

CDU: 628.1.033  
ICS: 13.060.20



CIIU: 4200  
AL 01.06-401

Norma Técnica  
Ecuatoriana  
Voluntaria

AGUA POTABLE.  
REQUISITOS

NTE INEN  
1 108:2011  
Cuarta revisión  
2011-06

### 1. OBJETO

1.1 Esta norma establece los requisitos que debe cumplir el agua potable para consumo humano.

### 2. ALCANCE

2.1 Esta norma se aplica al agua potable de los sistemas de abastecimiento públicos y privados a través de redes de distribución y tanqueros.

### 3. DEFINICIONES

3.1 Para efectos de esta norma se adoptan las siguientes definiciones:

3.1.1 *Agua potable.* Es el agua cuyas características físicas, químicas microbiológicas han sido tratadas a fin de garantizar su aptitud para consumo humano.

3.1.2 *Agua cruda.* Es el agua que se encuentra en la naturaleza y que no ha recibido ningún tratamiento para modificar sus características: físicas, químicas o microbiológicas.

3.1.3 *Límite máximo permitido.* Representa un requisito de calidad del agua potable que fija dentro del ámbito del conocimiento científico y tecnológico del momento un límite sobre el cual el agua deja de ser apta para consumo humano. Para la verificación del cumplimiento, los resultados se deben analizar con el mismo número de cifras significativas establecidas en los requisitos de esta norma y aplicando las reglas para redondear números, (ver NTE INEN 052).

3.1.4 *UFC/ml.* Concentración de microorganismos por mililitro, expresada en unidades formadoras de colonias.

3.1.5 *NMP.* Forma de expresión de parámetros microbiológicos, número más probable, cuando se aplica la técnica de los tubos múltiples.

3.1.6 *mg/l.* (miligramos por litro), unidades de concentración de parámetros físico químicos.

3.1.7 *Microorganismo patógeno.* Son los causantes potenciales de enfermedades para el ser humano.

3.1.8 *Plaguicidas.* Sustancia química o biológica que se utiliza, sola, combinada o mezclada para prevenir, combatir o destruir, repeler o mitigar: insectos, hongos, bacterias, nematodos, ácaros, moluscos, roedores, malas hierbas o cualquier forma de vida que cause perjuicios directos o indirectos a los cultivos agrícolas, productos vegetales y plantas en general.

3.1.9 *Desinfección.* Proceso de tratamiento que elimina o reduce el riesgo de enfermedad que pueden presentar los agentes microbianos patógenos, constituye una medida preventiva esencial para la salud pública.

3.1.10 *Subproductos de desinfección.* Productos que se generan al aplicar el desinfectante al agua, especialmente en presencia de sustancias húmicas.

3.1.11 *Cloro residual.* Cloro remanente en el agua luego de al menos 30 minutos de contacto.

3.1.12 *Sistema de abastecimiento de agua potable.* El sistema incluye las obras y trabajos auxiliares construidos para la captación, conducción, tratamiento, almacenamiento y sistema de distribución.

(Continúa)

DESCRIPTORES: Protección ambiental y sanitaria, seguridad, calidad del agua, agua potable, requisitos.

3.1.13 *Sistema de distribución.* Comprende las obras y trabajos auxiliares construidos desde la salida de la planta de tratamiento hasta la acometida domiciliaria.

#### 4. DISPOSICIONES ESPECÍFICAS

4.1 Los sistemas de abastecimiento de agua potable se acogerán al Reglamento de buenas prácticas de Manufactura (producción) del Ministerio de Salud Pública.

#### 5. REQUISITOS

##### 5.1 Requisitos específicos

5.1.1 El agua potable debe cumplir con los requisitos que se establecen a continuación:

PARAMETRO	UNIDAD	Límite máximo permitido
<b>Características físicas</b>		
Color	Unidades de color aparente (Pt-Co)	15
Turbiedad	NTU	5
Olor	—	no objetable
Sabor	—	no objetable
<b>Inorgánicos</b>		
Antimonio, Sb	mg/l	0,02
Arsénico, As	mg/l	0,01
Bario, Ba	mg/l	0,7
Boro, B	mg/l	0,5
Cadmio, Cd	mg/l	0,003
Cianuros, CN <sup>-</sup>	mg/l	0,07
Cloro libre residual*	mg/l	0,3 a 1,5 <sup>1)</sup>
Cobre, Cu	mg/l	2,0
Cromo, Cr (cromo total)	mg/l	0,05
Fluoruros	mg/l	1,5
Manganeso, Mn	mg/l	0,4
Mercurio, Hg	mg/l	0,006
Níquel, Ni	mg/l	0,07
Nitratos, NO <sub>3</sub>	mg/l	50
Nitritos, NO <sub>2</sub>	mg/l	0,2
Plomo, Pb	mg/l	0,01
Radiación total α *	Bq/l	0,1
Radiación total β **	Bq/l	1,0
Selenio, Se	mg/l	0,01

<sup>1)</sup> Es el rango en el que debe estar el cloro libre residual luego de un tiempo mínimo de contacto de 30 minutos.  
 \* Corresponde a la radiación emitida por los siguientes radionucleidos: <sup>210</sup>Po, <sup>224</sup>Ra, <sup>228</sup>Ra, <sup>232</sup>Th, <sup>234</sup>U, <sup>238</sup>U, <sup>239</sup>Pu  
 \*\* Corresponde a la radiación emitida por los siguientes radionucleidos: <sup>60</sup>Co, <sup>89</sup>Sr, <sup>90</sup>Sr, <sup>129</sup>I, <sup>131</sup>I, <sup>134</sup>I, <sup>137</sup>Cs, <sup>137</sup>Cs, <sup>210</sup>Pb, <sup>228</sup>Ra

#### Sustancias orgánicas

	UNIDAD	Límite máximo permitido
<b>Hidrocarburos policíclicos aromáticos HAP</b>		
Benzo [a]pireno	mg/l	0,0007
<b>Hidrocarburos:</b>		
Benceno	mg/l	0,01
Tolueno	mg/l	0,7
Xileno	mg/l	0,5
Estireno	mg/l	0,02
1,2dicloroetano	mg/l	0,03
Cloruro de vinilo	mg/l	0,0003
Tricloroetano	mg/l	0,02
Tetracloroetano	mg/l	0,04
Di(2-etilhexil) ftalato	mg/l	0,008
Acrylamida	mg/l	0,0005
Epiclorohidrina	mg/l	0,0004
Hexaclorobutadieno	mg/l	0,0006
1,2Dibromoetano	mg/l	0,0004
1,4- Dioxano	mg/l	0,05
Acido Nitrilotriacético	mg/l	0,2

(Continúa)

## Plaguicidas

	UNIDAD	Límite máximo permitido
Isoproturón	mg/l	0,009
Lindano	mg/l	0,002
Pendimetalina	mg/l	0,02
Pentaclorofenol	mg/l	0,009
Dicloroprop	mg/l	0,1
Alacloro	mg/l	0,02
Aldicarb	mg/l	0,01
Aldrín y Dieldrín	mg/l	0,00003
Carbofuran	mg/l	0,007
Clorpirifós	mg/l	0,03
DDT y metabolitos	mg/l	0,001
1,2-Dibromo-3-cloropropano	mg/l	0,001
1,3-Dicloropropeno	mg/l	0,02
Dimetoato	mg/l	0,006
Endrín	mg/l	0,0006
Terbutilazina	mg/l	0,007
Clordano	mg/l	0,0002

## Residuos de desinfectantes

	UNIDAD	Límite máximo permitido
Monocloramina,	mg/l	3

## Subproductos de desinfección

	UNIDAD	Límite máximo permitido
2,4,6-triclorofenol	mg/l	0,2
Trihalometanos totales	mg/l	0,5
Si pasa de 0,5 mg/l investigar:		
• Bromodiclorometano	mg/l	0,06
• Cloroformo	mg/l	0,3
Ácido tricloroacético	mg/l	0,2

## Cianotoxinas

	UNIDAD	Límite máximo permitido
Microcistina-LR	mg/l	0,001

5.1.2 El agua potable debe cumplir con los siguientes requisitos microbiológicos.

## Requisitos microbiológicos

	Máximo
Coliformes fecales <sup>(1)</sup> :	
- Tubos múltiples NMP/100 ml ó	< 1,1 *
- Filtración por membrana UFC/ 100 ml	< 1 **
<i>Cryptosporidium</i> , número de ooquistes/100 litros	Ausencia
<i>Giardia</i> , número de quistes/100 litros	Ausencia

\* < 1,1 significa que en el ensayo del NMP utilizando 5 tubos de 20 cm<sup>3</sup> ó 10 tubos de 10 cm<sup>3</sup> ninguno es positivo  
 \*\* < 1 significa que no se observan colonias  
 (1) ver el anexo 1, para el número de unidades (muestras) a tomar de acuerdo con la población servida

(Continúa)

## 6. INSPECCIÓN

### 6.1 Muestreo

6.1.1 El muestreo para el análisis microbiológico, físico, químico debe realizarse de acuerdo a los métodos estandarizados para el agua potable y residual (Standard Methods).

6.1.2 El agua potable debe ser monitoreada permanentemente para asegurar que no se producen desviaciones en los parámetros aquí indicados.

6.1.3 El manejo y conservación de las muestras para la realización de los análisis debe realizarse de acuerdo con lo establecido en los métodos estandarizados para el agua potable y residual (Standard Methods).

## 7. MÉTODOS DE ENSAYO

7.1 Los métodos de ensayo utilizados para los análisis que se especifican en esta norma serán los métodos estandarizados para el agua potable y residual (Standard Methods) especificados en su última edición. En caso que no conste el método de análisis para un parámetro en el Standard Methods, se utilizará un método estandarizado propuesto por un organismo reconocido.

(Continúa)

**APENDICE Y**  
**(Informativo)**

**Número de unidades a tomarse de acuerdo a la población servida**

**ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO EN EL SISTEMA DE DISTRIBUCIÓN DE AGUA POTABLE**

<b>POBLACIÓN</b>	<b>NÚMERO TOTAL DE MUESTRAS POR AÑO</b>
< 5 000	12
5 000 – 100 000	12 POR CADA 5 000 PERSONAS
> 100 000 – 500 000	120 MÁS 12 POR CADA 10 000 PERSONAS
> 500 000	180 MÁS 12 POR CADA 100 000 PERSONAS

Guías para la calidad del agua potable 3ra. Ed. (incluido el 1er. Adendum) 2006; Capítulo 4 numeral 4.3.4 cuadro 4.5

(Continúa)



**APÉNDICE Z****Z.1 DOCUMENTOS NORMATIVOS A CONSULTAR**

*Métodos Estandarizados para el Análisis de Aguas y Aguas Residuales* (Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater) en su última edición. Publicado por la APHA (American Public Health Association), AWWA (American Water World Association) y WEF (Water Environment Federation).

Reglamento de Buenas Prácticas de Manufactura para Alimentos Procesados. Decreto Ejecutivo 3253, Registro Oficial 696 de 4 de Noviembre del 2002

**Z.2 BASES DE ESTUDIO**

World Health Organization. *Guidelines for Drinking-water Quality First Addendum to Third Edition Volume 1 Recommendations*. World Health Organization, 2006.

## INFORMACIÓN COMPLEMENTARIA

<b>Documento:</b> NTE INEN 1 108 Cuarta revisión	<b>TÍTULO:</b> AGUA POTABLE. REQUISITOS	<b>Código:</b> AL 01.06-401
<b>ORIGINAL:</b> Fecha de iniciación del estudio:	<b>REVISIÓN:</b> Fecha de aprobación anterior del Consejo Directivo 2009-08-28 Oficialización con el Carácter de Obligatoria por Resolución No 111-2009 de 2009-11-27 publicado en el Registro Oficial No. 111 de 2010-01-19	
	Fecha de iniciación del estudio: 2010-04	
Fechas de consulta pública: de _____ a _____		

<b>Subcomité Técnico:</b> Agua potable	<b>Fecha de aprobación:</b> 2010-12-10
<b>Fecha de iniciación:</b> 2010-07-05	
<b>Integrantes del Subcomité Técnico:</b>	
<b>NOMBRES:</b>	<b>INSTITUCIÓN REPRESENTADA:</b>
Dra. Jenny Murillo (Presidenta del SCT)	UNIVERSIDAD CENTRAL, FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
Dra. Zoila Novillo	MIDUVI – SUBSECRETARÍA DE SERVICIOS DOMICILIARIOS
Dra. Mónica Garcés	DE AGUA POTABLE, SANEAMIENTO Y RESIDUOS SÓLIDOS
Ing. Fabián Monge	MINISTERIO DE SALUD – CONTROL Y MEJORAMIENTO DE
Ing. Marcelo Carpio	LA SALUD PÚBLICA, SALUD AMBIENTAL
Dr. Carlos Espinosa	DIRECCION PROVINCIAL DE SALUD, Pichincha
Dr. Edgar Pazmiño	EMPRESA PÚBLICA METROPOLITANA DE AGUA POTABLE Y
Ing. Yolanda Lara	SANEAMIENTO
Quim. Farm. Giomara Quizpe	EMPRESA PÚBLICA METROPOLITANA DE AGUA POTABLE Y
Ing. Trajano Ramírez	SANEAMIENTO
Ing. Laura Ramírez	EMPRESA PÚBLICA METROPOLITANA DE AGUA POTABLE Y
Ing. Viviana Guzmán	SANEAMIENTO
Ing. Adriana Jácome	MINISTERIO DE SALUD – SISTEMA DE ALIMENTOS
Ing. Verónica Morales	INSTITUTO NACIONAL DE HIGIENE, Guayaquil
Ing. Benito Mendoza	ANEMAPA – ESCUELA POLITÉCNICA NACIONAL
Dr. Luis Cazar	OPS / OMS ECUADOR
Ing. Marco Yépez	SENAGUA
Ing. Patricio Vásquez	SENAGUA
Ing. Carlos Paredes	SENAGUA
Dr. Hugo Yela	UNIVERSIDAD NACIONAL DE CHIMBORAZO
Ing. Carlos Velarde	INTERAGUA
Ing. Alexander Hildebrand	MIDUVI – SUBSECRETARÍA DE SERVICIOS DOMICILIARIOS
Dr. Hernán Riofrio	DE AGUA POTABLE, SANEAMIENTO Y RESIDUOS SÓLIDOS
Dra. Jaqueline Arroyo	ETAPA - CUENCA
Ing. Eduardo Espín	ECAPAG- GUAYAQUIL
Dra. Julieta Astudillo	INTERAGUA
Dra. Sofía Luzuriaga	EP – EMAPAR
Ing. María E. Dávalos (Secretaria Técnica)	ORGANIZACIÓN PANAMERICA DE LA SALUD, Quito
	SECRETARÍA DE SALUD MUNICIPIO QUITO
	CONSULTOR – PARTICULAR
	MINISTERIO DEL AMBIENTE
	INSTITUTO NACIONAL DE HIGIENE, Guayaquil
	PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATOLICA ECUADOR
	INEN - REGIONAL CHIMBORAZO

Otros trámites: ♦ La NTE INEN 1 108:2010 (Tercera Revisión), sin ningún cambio en su contenido fue **DESREGULARIZADA**, pasando de **OBLIGATORIA** a **VOLUNTARIA**, según Resolución No. 009-2010 de 2010-03-05, publicada en el Registro Oficial No. 152 del 2010-03-17.

Esta NTE INEN 1 108:2011 (Cuarta Revisión), reemplaza a la NTE INEN 1 108:2010 (Tercera Revisión)

La Subsecretaría de Industrias, Productividad e Innovación Tecnológica del Ministerio de Industrias y Productividad aprobó este proyecto de norma

Oficializada como: Voluntaria Por Resolución No. 11 135 de 2011-05-20  
Registro Oficial No. 481 de 2011-06-30



### ANEXO 3. LISTADO DE PLAGUICIDAS PROHIBIDOS EN ECUADOR

ACUERDO	PRODUCTOS	JUSTIFICATIVO
<b>Acuerdo Ministerial No 0112.-</b> publicado en el Registro Oficial No 64 con fecha 12-Noviembre de 1992	1.Aldrin 2.Dieldrin 3.Endrin 4.BHC 5.Campheclor (Toxafeno) 6.Clordimeform (Galecron y Fundal) 7.Chlordano 8.DDT 9.DBCP 10.Lindano 11.EDB 12.2, 4, 5 T. 13.Amitrole 14.Compuestos mercuriales y de Plomo 15.Tetracloruro de Carbono 16.Leptophos 17.Heptachloro 18.Chlorobenzilato	Por ser nocivos para la salud y haber sido prohibida su fabricación, comercialización o uso en varios países
	19.Methyl Parathion 20.Diethyl Parathion 21.Ethyl Parathion 22.Mirex 23.Dinoseb.	Por producir contaminación ambiental efectos tóxicos y por haberse cancelado el registro en varios países
	24.Pentaclorofenol 25.Arseniato de Cobre	Únicamente para uso industrial, no para uso agrícola
<b>Acuerdo Ministerial No 333.-</b> publicado en el Registro Oficial No 288 con fecha 30 de Septiembre de 1999	26.Aldicarb Temik 10% G y 15% G, Restringe el uso, aplicación y comercialización exclusivamente a flores y exclusivamente mediante el método de "USO RESTRINGIDO Y VENTA APLICADA".	Para evitar la aplicación de este plaguicida en banano y haberse encontrado residuos de Temik en banano procedente de Ecuador. Por haberse cancelado y prohibido su uso en varios países. Por nocivo para la salud
<b>Acuerdo Ministerial No 123,</b> publicado en el Registro Oficial No 326 con fecha 15-Mayo del 2001	27.Zineb solo o en combinación con otros fungicidas.	Por ser potencialmente nocivo para la salud humana y estar cancelado y prohibido su uso en algunos países



Ministerio de Agricultura, Ganadería  
Acuicultura y Pesca



<b>Resolución No 015,</b> publicado en el Registro Oficial No 116 con fecha 3-October de 2005	28. Binapacril	Por riesgos cancerogénicos, constituyendo productos nocivos para la salud humana, animal y el ambiente
	29. Oxido de etilen	
	30. Biclouro de etileno	
	31. Monocrotofos	Por haber prohibido su uso en varios países, debido a sus propiedades nocivas para la salud y el ambiente
	32. Dinitro Orto Cresol- DNOC (Trifrina).	Por ser un producto peligroso para la salud humana y el ambiente
<b>Resolución No 073,</b> publicado en el R.O. 505 de 13/01/2009	33. Captafol	Por nocivos para la salud y ambiente
	34. Fluoroacetamida	
	35. HCH (mezcla de isómeros)	
	36. Hexaclorobenceno	
	37. Paratión	
	38. Pentaclorofenol y sales y ésteres de pentaclorofenol	
	39. Formulaciones de polvo seco con la mezcla de: 7% o más de benomilo, 10% o más de carbofurano y 15% o más de tiram	
40. Metamidofos (Formulaciones líquidas solubles de la sustancia que sobrepasen los 600 g/l de ingrediente activo)		
41. Fosfamidón (Formulaciones líquidas solubles de la sustancia que sobrepasen los 1000 g/l de ingrediente activo)		

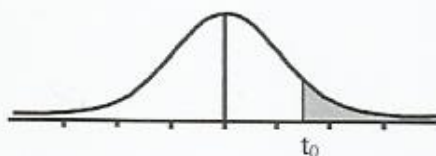
FUENTE: Coordinación Control Fitosanitario

***La Patria ya es de todos!***

Av. Eloy Alfaro y Amazonas, Edif. MAGAP, piso 9 piso 9  
 Teléf: +593-2 2567-232 / 2 543-319 / 2 2228-448  
[www.sesa.gov.ec](http://www.sesa.gov.ec) - [directoresa@sesa.gov.ec](mailto:directoresa@sesa.gov.ec)

Quito - Ecuador

Tabla t-Student



Grados de libertad	0.25	0.1	0.05	0.025	0.01	0.005
1	1.0000	3.0777	6.3137	12.7062	31.8210	63.6559
2	0.8165	1.8856	2.9200	4.3027	6.9645	9.9250
3	0.7649	1.6377	2.3534	3.1824	4.5407	5.8408
4	0.7407	1.5332	2.1318	2.7765	3.7469	4.6041
5	0.7267	1.4759	2.0150	2.5706	3.3649	4.0321
6	0.7176	1.4398	1.9432	2.4469	3.1427	3.7074
7	0.7111	1.4149	1.8946	2.3646	2.9979	3.4995
8	0.7064	1.3968	1.8595	2.3060	2.8965	3.3554
9	0.7027	1.3830	1.8331	2.2622	2.8214	3.2498
10	0.6998	1.3722	1.8125	2.2281	2.7638	3.1693
11	0.6974	1.3634	1.7959	2.2010	2.7181	3.1058
12	0.6955	1.3562	1.7823	2.1788	2.6810	3.0545
13	0.6938	1.3502	1.7709	2.1604	2.6503	3.0123
14	0.6924	1.3450	1.7613	2.1448	2.6245	2.9768
15	0.6912	1.3406	1.7531	2.1315	2.6025	2.9467
16	0.6901	1.3368	1.7459	2.1199	2.5835	2.9208
17	0.6892	1.3334	1.7396	2.1098	2.5669	2.8982
18	0.6884	1.3304	1.7341	2.1009	2.5524	2.8784
19	0.6876	1.3277	1.7291	2.0930	2.5395	2.8609
20	0.6870	1.3253	1.7247	2.0860	2.5280	2.8453
21	0.6864	1.3232	1.7207	2.0796	2.5176	2.8314
22	0.6858	1.3212	1.7171	2.0739	2.5083	2.8188
23	0.6853	1.3195	1.7139	2.0687	2.4999	2.8073
24	0.6848	1.3178	1.7109	2.0639	2.4922	2.7970
25	0.6844	1.3163	1.7081	2.0595	2.4851	2.7874
26	0.6840	1.3150	1.7056	2.0555	2.4786	2.7787
27	0.6837	1.3137	1.7033	2.0518	2.4727	2.7707
28	0.6834	1.3125	1.7011	2.0484	2.4671	2.7633
29	0.6830	1.3114	1.6991	2.0452	2.4620	2.7564
30	0.6828	1.3104	1.6973	2.0423	2.4573	2.7500
31	0.6825	1.3095	1.6955	2.0395	2.4528	2.7440
32	0.6822	1.3086	1.6939	2.0369	2.4487	2.7385
33	0.6820	1.3077	1.6924	2.0345	2.4448	2.7333
34	0.6818	1.3070	1.6909	2.0322	2.4411	2.7284
35	0.6816	1.3062	1.6896	2.0301	2.4377	2.7238
36	0.6814	1.3055	1.6883	2.0281	2.4345	2.7195
37	0.6812	1.3049	1.6871	2.0262	2.4314	2.7154
38	0.6810	1.3042	1.6860	2.0244	2.4286	2.7116
39	0.6808	1.3036	1.6849	2.0227	2.4258	2.7079
40	0.6807	1.3031	1.6839	2.0211	2.4233	2.7045
41	0.6805	1.3025	1.6829	2.0195	2.4208	2.7012
42	0.6804	1.3020	1.6820	2.0181	2.4185	2.6981
43	0.6802	1.3016	1.6811	2.0167	2.4163	2.6951
44	0.6801	1.3011	1.6802	2.0154	2.4141	2.6923
45	0.6800	1.3007	1.6794	2.0141	2.4121	2.6896
46	0.6799	1.3002	1.6787	2.0129	2.4102	2.6870
47	0.6797	1.2998	1.6779	2.0117	2.4083	2.6846
48	0.6796	1.2994	1.6772	2.0106	2.4066	2.6822
49	0.6795	1.2991	1.6766	2.0096	2.4049	2.6800

**Tabla D.9: VALORES CRÍTICOS DE LA DISTRIBUCIÓN F (0,05)**

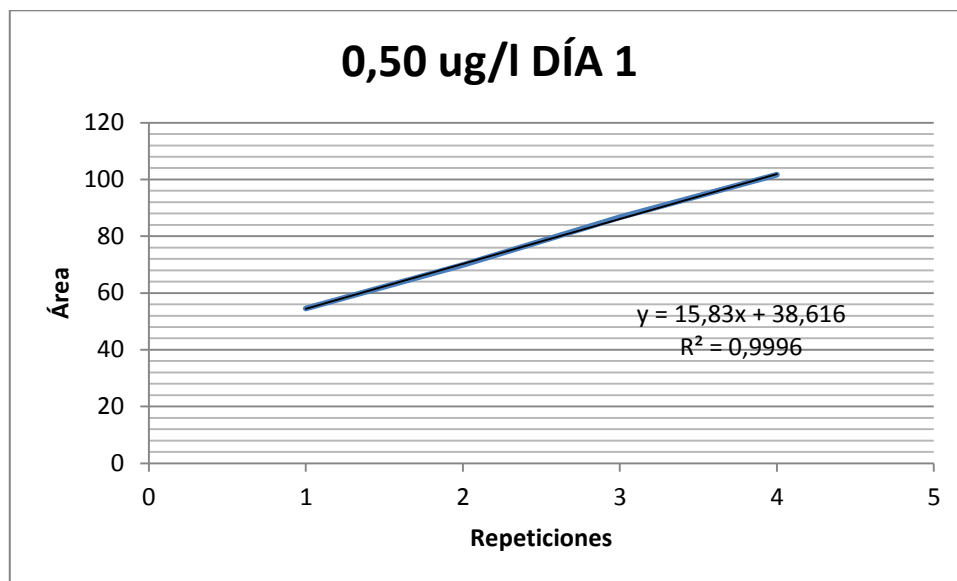
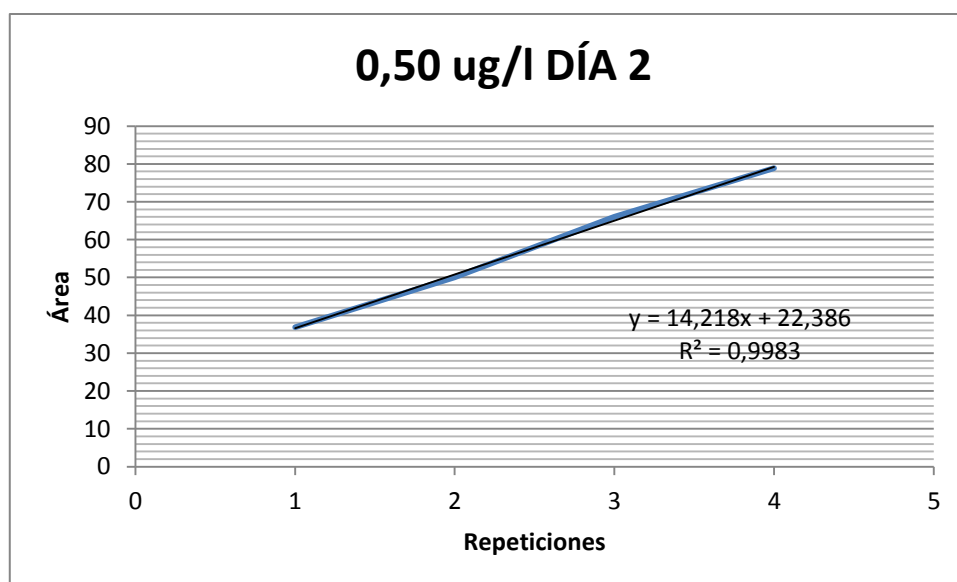


área a la derecha del valor crítico = 0,05

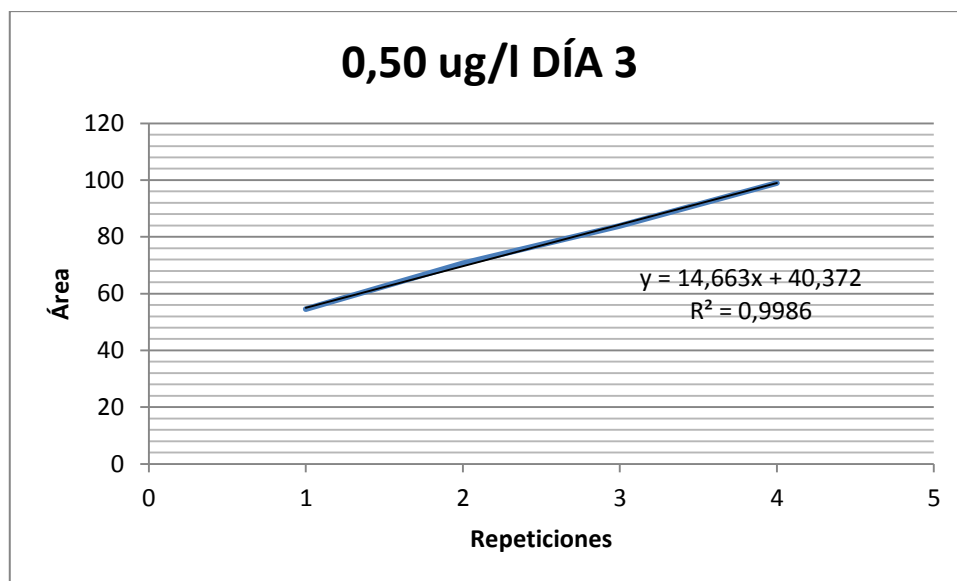
g.d.l	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	g.d.l
1	161,4	199,5	215,7	224,6	230,2	234,0	236,8	238,9	240,5	241,9	243,0	243,9	244,7	245,4	245,9	1
2	18,513	19,000	19,164	19,247	19,296	19,330	19,353	19,371	19,385	19,396	19,405	19,413	19,419	19,424	19,429	2
3	10,128	9,552	9,277	9,117	9,013	8,941	8,887	8,845	8,812	8,786	8,763	8,745	8,729	8,715	8,703	3
4	7,709	6,944	6,591	6,388	6,256	6,163	6,094	6,041	5,999	5,964	5,936	5,912	5,891	5,873	5,858	4
5	6,608	5,786	5,409	5,192	5,050	4,950	4,876	4,818	4,772	4,735	4,704	4,678	4,655	4,636	4,619	5
6	5,987	5,143	4,757	4,534	4,387	4,284	4,207	4,147	4,099	4,060	4,027	4,000	3,976	3,956	3,938	6
7	5,591	4,737	4,347	4,120	3,972	3,866	3,787	3,726	3,677	3,637	3,603	3,575	3,550	3,529	3,511	7
8	5,318	4,459	4,066	3,838	3,688	3,581	3,500	3,438	3,388	3,347	3,313	3,284	3,259	3,237	3,218	8
9	5,117	4,256	3,863	3,633	3,482	3,374	3,293	3,230	3,179	3,137	3,102	3,073	3,048	3,025	3,006	9
10	4,965	4,103	3,708	3,478	3,326	3,217	3,135	3,072	3,020	2,978	2,943	2,913	2,887	2,865	2,845	10
11	4,844	3,982	3,587	3,357	3,204	3,095	3,012	2,948	2,896	2,854	2,818	2,788	2,761	2,739	2,719	11
12	4,747	3,885	3,490	3,259	3,106	2,996	2,913	2,849	2,796	2,753	2,717	2,687	2,660	2,637	2,617	12
13	4,667	3,806	3,411	3,179	3,025	2,915	2,832	2,767	2,714	2,671	2,635	2,604	2,577	2,554	2,533	13
14	4,600	3,739	3,344	3,112	2,958	2,848	2,764	2,699	2,646	2,602	2,565	2,534	2,507	2,484	2,463	14
15	4,543	3,682	3,287	3,056	2,901	2,790	2,707	2,641	2,588	2,544	2,507	2,475	2,448	2,424	2,403	15
16	4,494	3,634	3,239	3,007	2,852	2,741	2,657	2,591	2,538	2,494	2,456	2,425	2,397	2,373	2,352	16
17	4,451	3,592	3,197	2,965	2,810	2,699	2,614	2,548	2,494	2,450	2,413	2,381	2,353	2,329	2,308	17
18	4,414	3,555	3,160	2,928	2,773	2,661	2,577	2,510	2,456	2,412	2,374	2,342	2,314	2,290	2,269	18
19	4,381	3,522	3,127	2,895	2,740	2,628	2,544	2,477	2,423	2,378	2,340	2,308	2,280	2,256	2,234	19
20	4,351	3,493	3,098	2,866	2,711	2,599	2,514	2,447	2,393	2,348	2,310	2,278	2,250	2,225	2,203	20
21	4,325	3,467	3,072	2,840	2,685	2,573	2,488	2,420	2,366	2,321	2,283	2,250	2,222	2,197	2,176	21
22	4,301	3,443	3,049	2,817	2,661	2,549	2,464	2,397	2,342	2,297	2,259	2,226	2,198	2,173	2,151	22
23	4,279	3,422	3,028	2,796	2,640	2,528	2,442	2,375	2,320	2,275	2,236	2,203	2,175	2,150	2,128	23
24	4,260	3,403	3,009	2,776	2,621	2,508	2,423	2,355	2,300	2,255	2,216	2,183	2,155	2,130	2,108	24
25	4,242	3,385	2,991	2,759	2,603	2,490	2,405	2,337	2,282	2,236	2,198	2,165	2,136	2,111	2,089	25
26	4,225	3,369	2,975	2,743	2,587	2,474	2,388	2,321	2,265	2,220	2,181	2,148	2,119	2,094	2,072	26
27	4,210	3,354	2,960	2,728	2,572	2,459	2,373	2,305	2,250	2,204	2,166	2,132	2,103	2,078	2,056	27
28	4,196	3,340	2,947	2,714	2,558	2,445	2,359	2,291	2,236	2,190	2,151	2,118	2,089	2,064	2,041	28
29	4,183	3,328	2,934	2,701	2,545	2,432	2,346	2,278	2,223	2,177	2,138	2,104	2,075	2,050	2,027	29
30	4,171	3,316	2,922	2,690	2,534	2,421	2,334	2,266	2,211	2,165	2,126	2,092	2,063	2,037	2,015	30
31	4,160	3,305	2,911	2,679	2,523	2,409	2,323	2,255	2,199	2,153	2,114	2,080	2,051	2,026	2,003	31
32	4,149	3,295	2,901	2,668	2,512	2,399	2,313	2,244	2,189	2,142	2,103	2,070	2,040	2,015	1,992	32
33	4,139	3,285	2,892	2,659	2,503	2,389	2,303	2,234	2,179	2,132	2,093	2,060	2,030	2,004	1,982	33
34	4,130	3,276	2,883	2,650	2,494	2,380	2,294	2,225	2,170	2,123	2,084	2,050	2,021	1,995	1,972	34
35	4,121	3,267	2,874	2,641	2,485	2,372	2,285	2,217	2,161	2,114	2,075	2,041	2,012	1,986	1,963	35
40	4,085	3,232	2,839	2,606	2,449	2,336	2,249	2,180	2,124	2,077	2,038	2,003	1,974	1,948	1,924	40
60	4,001	3,150	2,758	2,525	2,368	2,254	2,167	2,097	2,040	1,993	1,952	1,917	1,887	1,860	1,836	60
80	3,960	3,111	2,719	2,486	2,329	2,214	2,126	2,056	1,999	1,951	1,910	1,875	1,845	1,817	1,793	80
90	3,947	3,098	2,706	2,473	2,316	2,201	2,113	2,043	1,986	1,938	1,897	1,861	1,830	1,803	1,779	90
100	3,936	3,087	2,696	2,463	2,305	2,191	2,103	2,032	1,975	1,927	1,886	1,850	1,819	1,792	1,768	100
120	3,920	3,072	2,680	2,447	2,290	2,175	2,087	2,016	1,959	1,910	1,869	1,834	1,803	1,775	1,750	120
inf.	3,841	2,996	2,605	2,372	2,214	2,099	2,010	1,938	1,880	1,831	1,789	1,752	1,720	1,692	1,666	inf.

## **ANEXO D.**

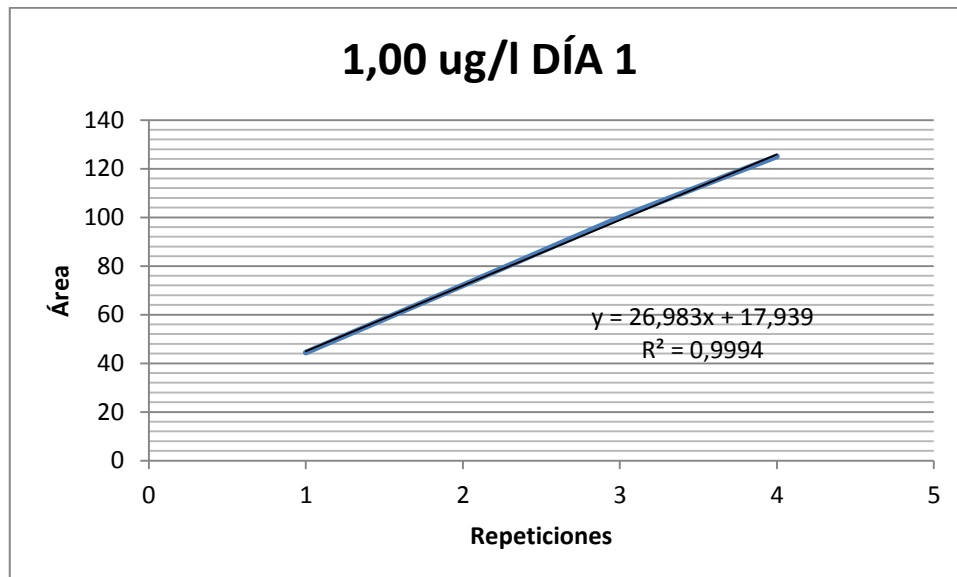
- **TODAS LAS CURVAS DE LAS CORRIDAS DEL DDT, DDD Y DDE.**
- **GRÁFICOS Y DATOS DEL EQUIPO.**

**CURVAS DEL 4.4'- DDT.****Figura 22.** Curva de calibración 0,50 ug/l día 1 estándar 4.4'-DDT.**Figura 23.** Curva de calibración 0,50 ug/l día 2 estándar 4.4'-DDT.

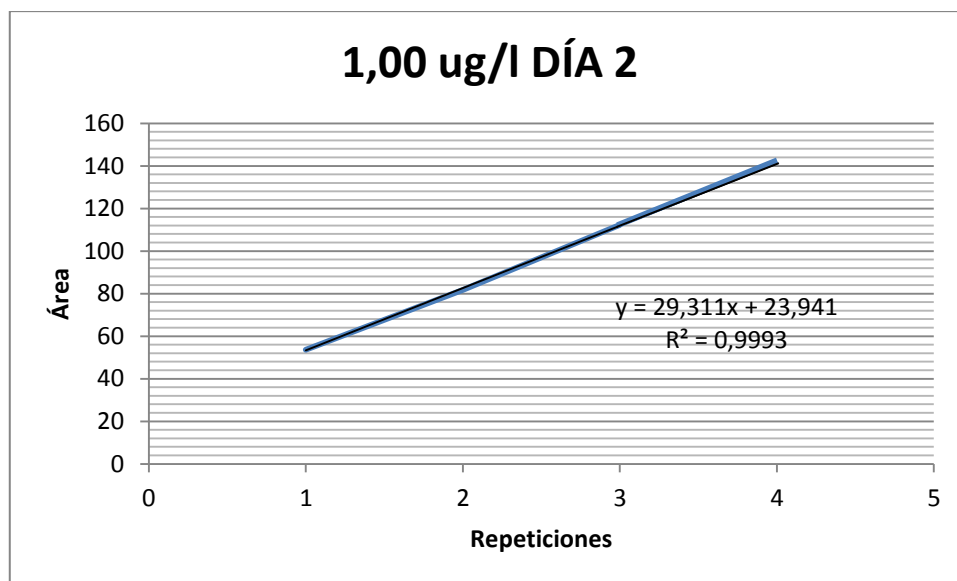




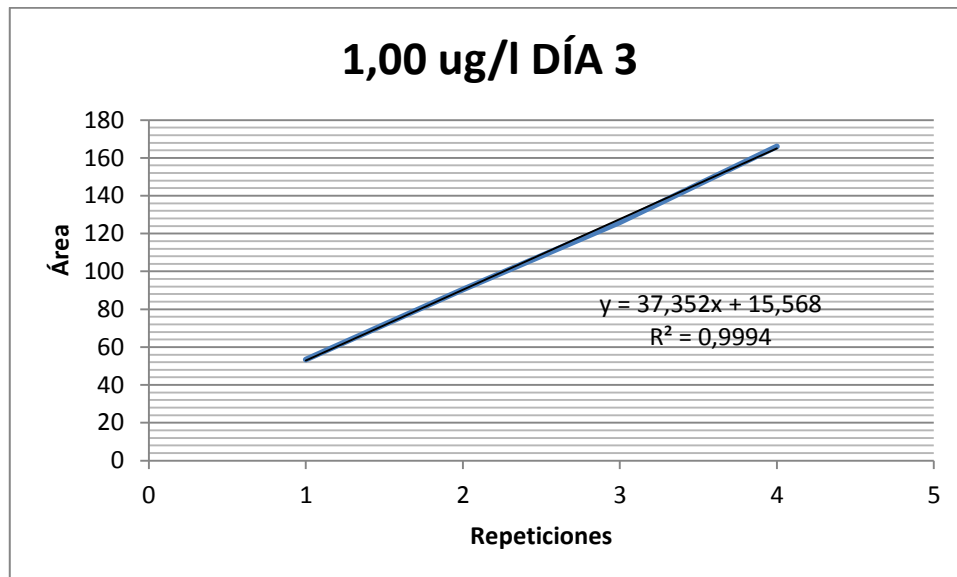
**Figura 24.** Curva de calibración 0,50 ug/l día 3 estándar 4.4'-DDT.



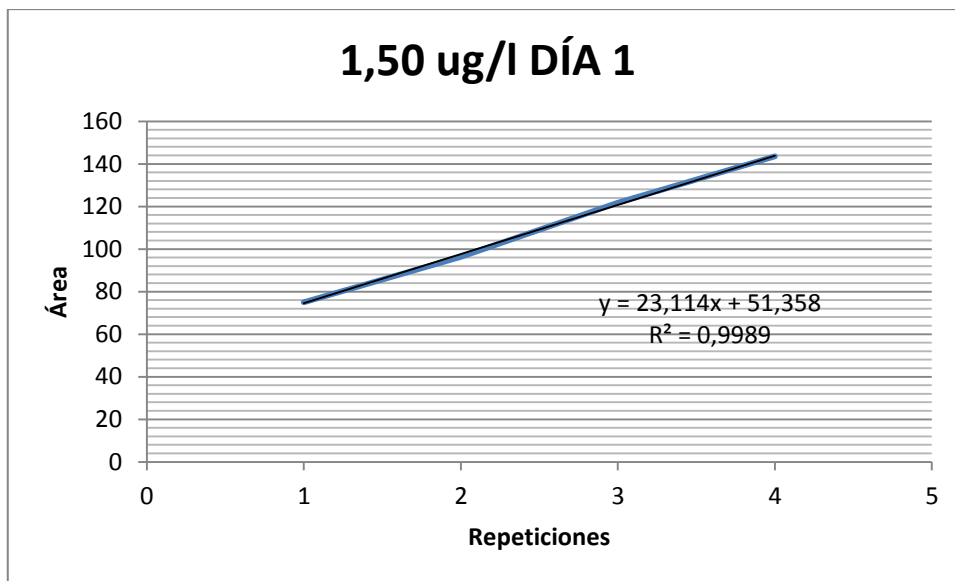
**Figura 25.** Curva de calibración 1,00 ug/l día 1 estándar 4.4'-DDT.



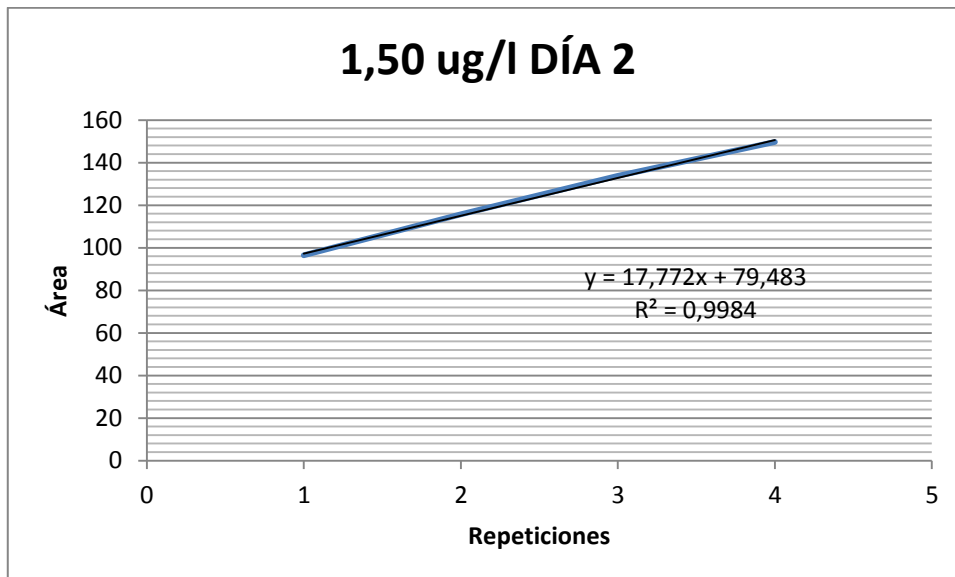
**Figura 26.** Curva de calibración 1,00 ug/l día 2 estándar 4.4'-DDT.



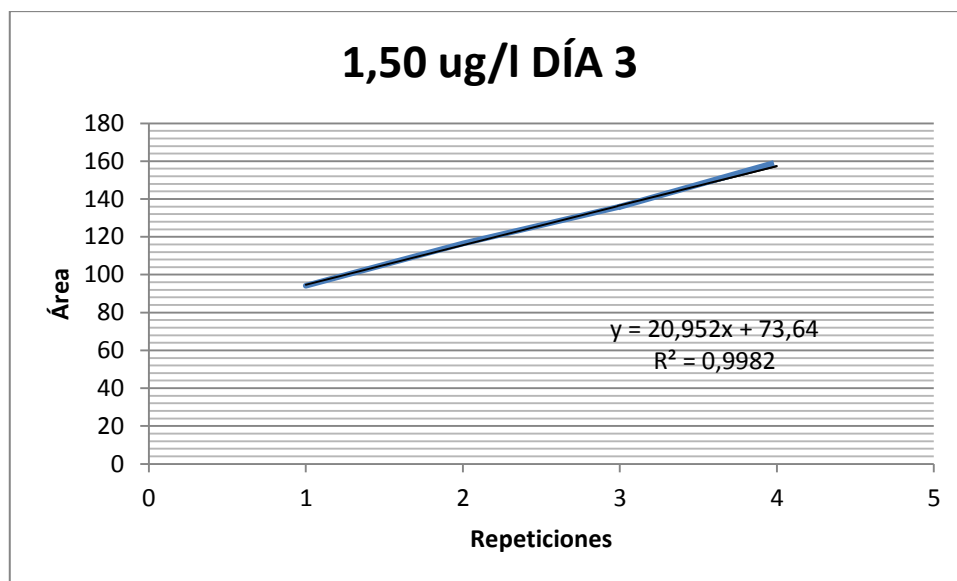
**Figura 27.** Curva de calibración 1,00 ug/l día 3 estándar 4.4'-DDT.



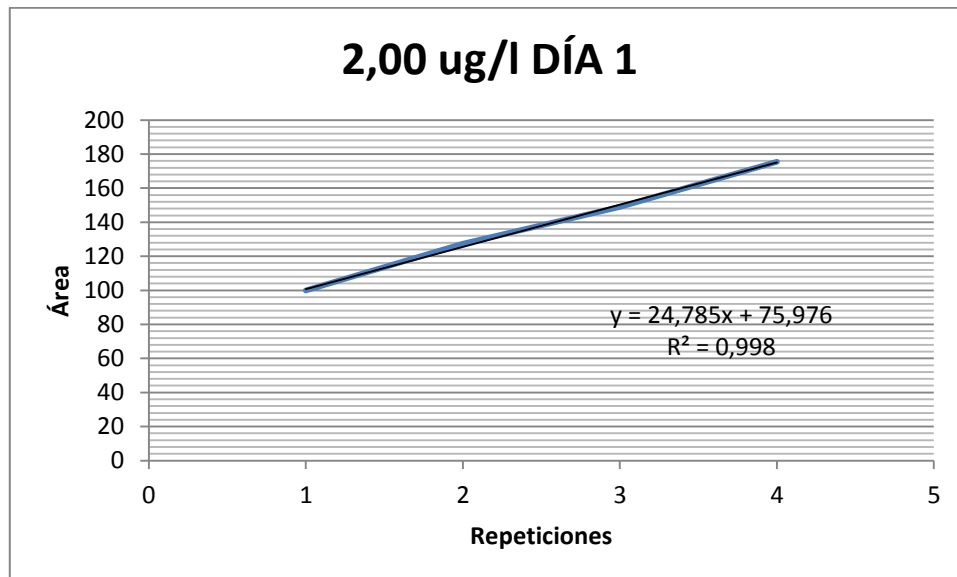
**Figura 28.** Curva de calibración 1,50 ug/l día 1 estándar 4.4'-DDT.



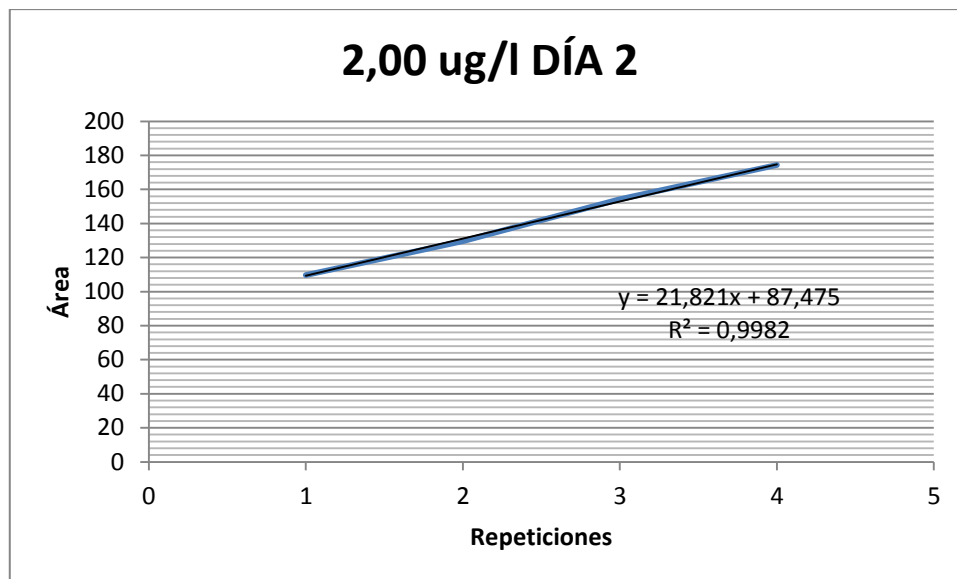
**Figura 29.** Curva de calibración 1,50 ug/l día 2 estándar 4.4'-DDT.



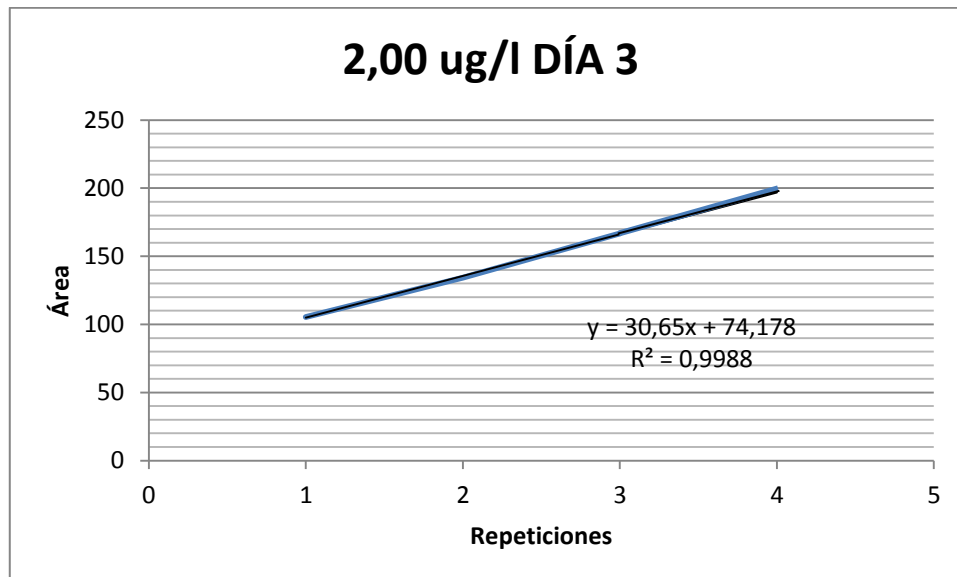
**Figura 30.** Curva de calibración 1,50 ug/l día 3 estándar 4.4'-DDT.



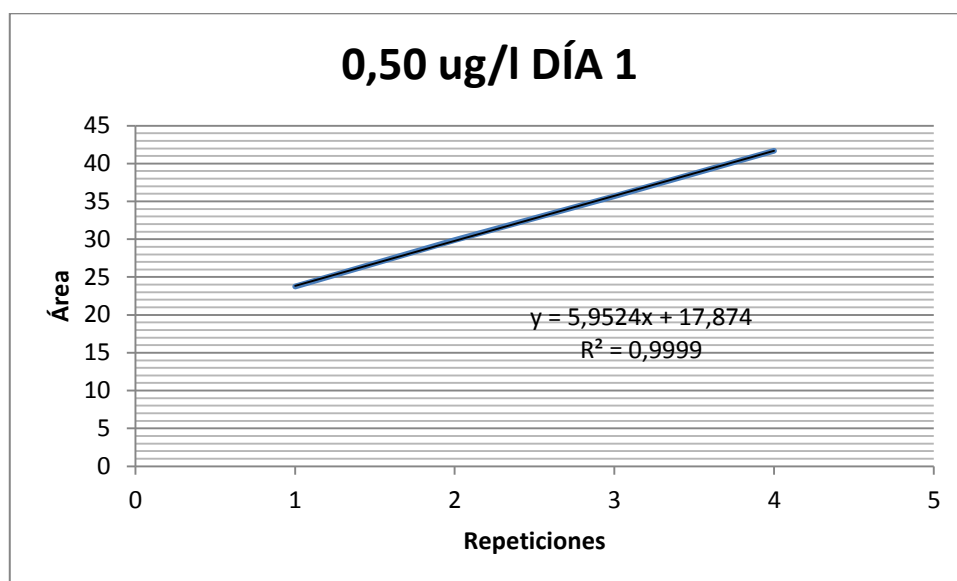
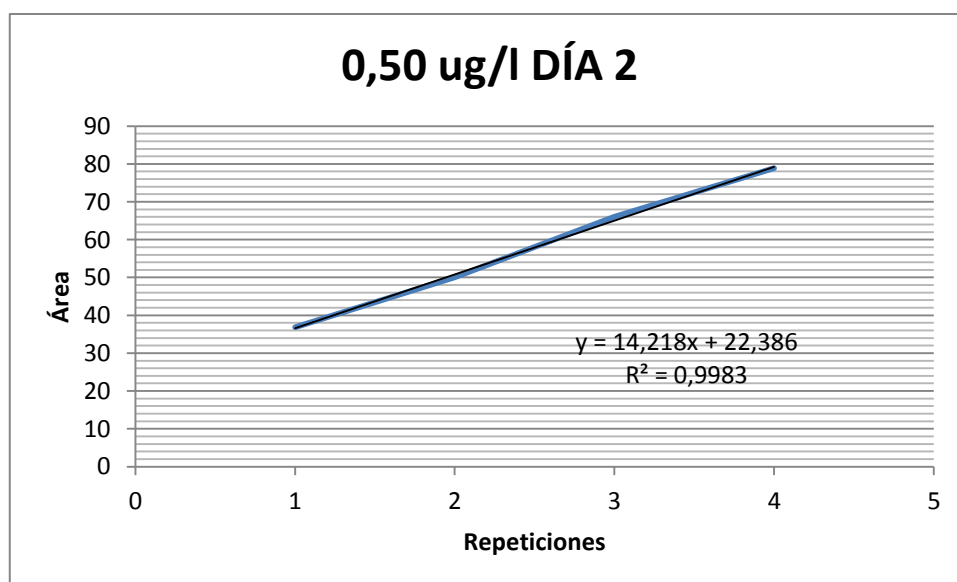
**Figura 31.** Curva de calibración 2,00 ug/l día 1 estándar 4.4'-DDT.

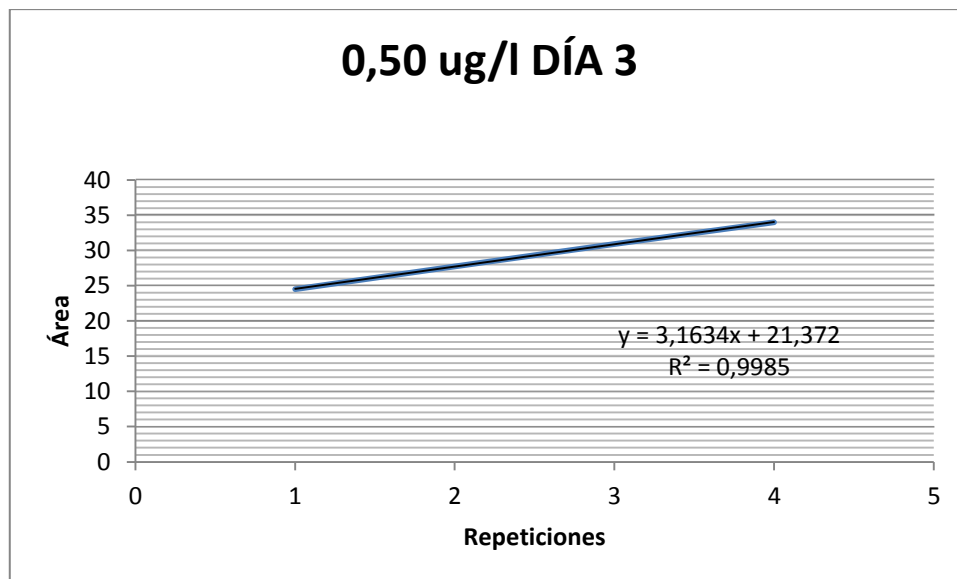


**Figura 32.** Curva de calibración 2,00 ug/l día 2 estándar 4.4'-DDT.

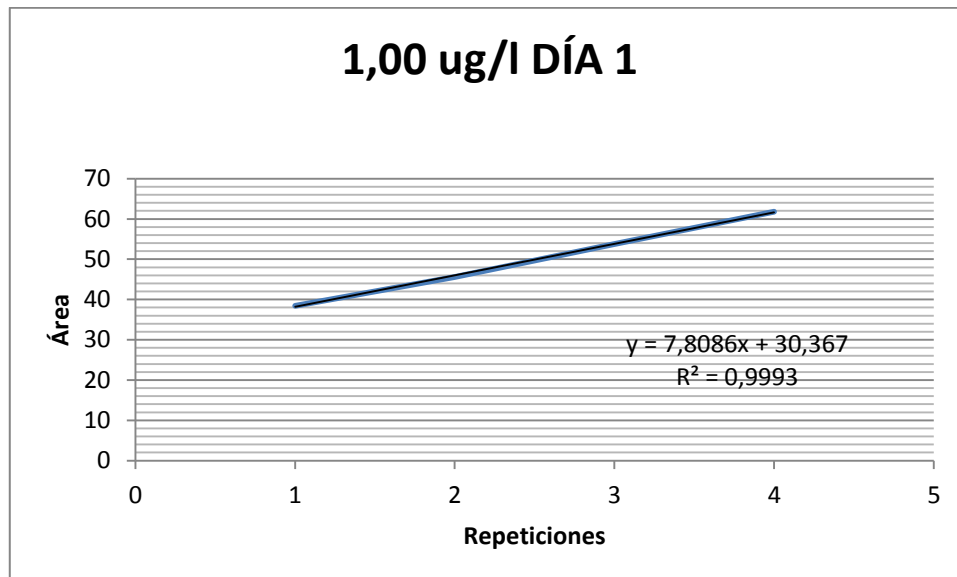


**Figura 33.** Curva de calibración 2,00 ug/l día 3 estándar 4.4'-DDT.

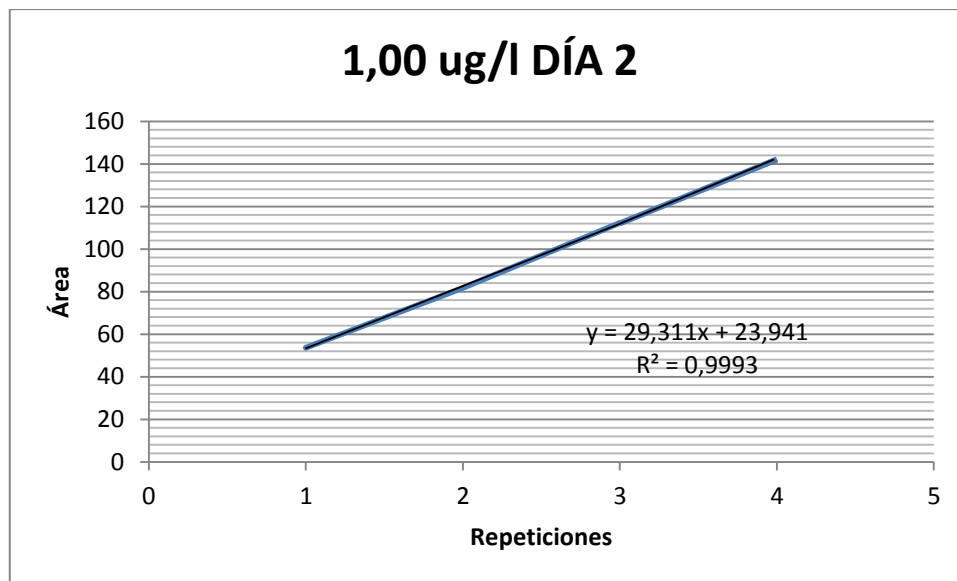
**CURVAS DEL 4.4'- DDD.****Figura 34.** Curva de calibración 0,50 ug/l día 1 estándar 4.4'-DDD.**Figura 35.** Curva de calibración 0,50 ug/l día 2 estándar 4.4'-DDD.



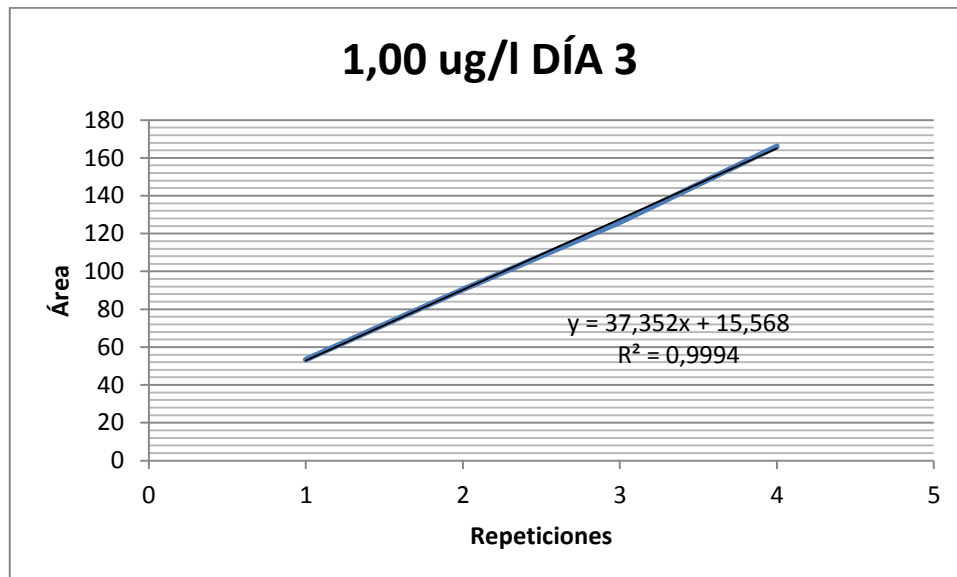
**Figura 36.** Curva de calibración 0,50 ug/l día 3 estándar 4.4'-DDD.



**Figura 37.** Curva de calibración 1,00 ug/l día 1 estándar 4.4'-DDD.

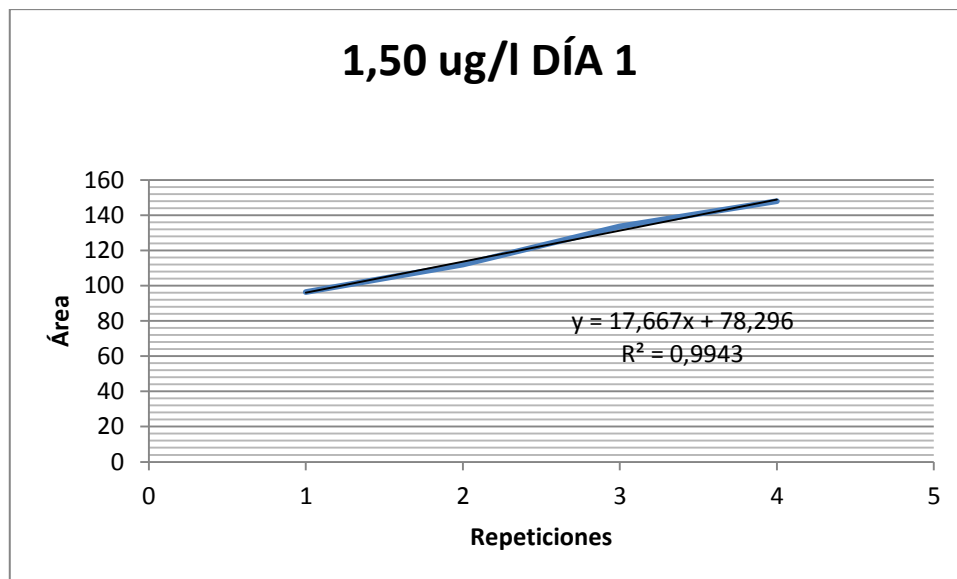


**Figura 38.** Curva de calibración 1,00 ug/l día 2 estándar 4.4'-DDD.

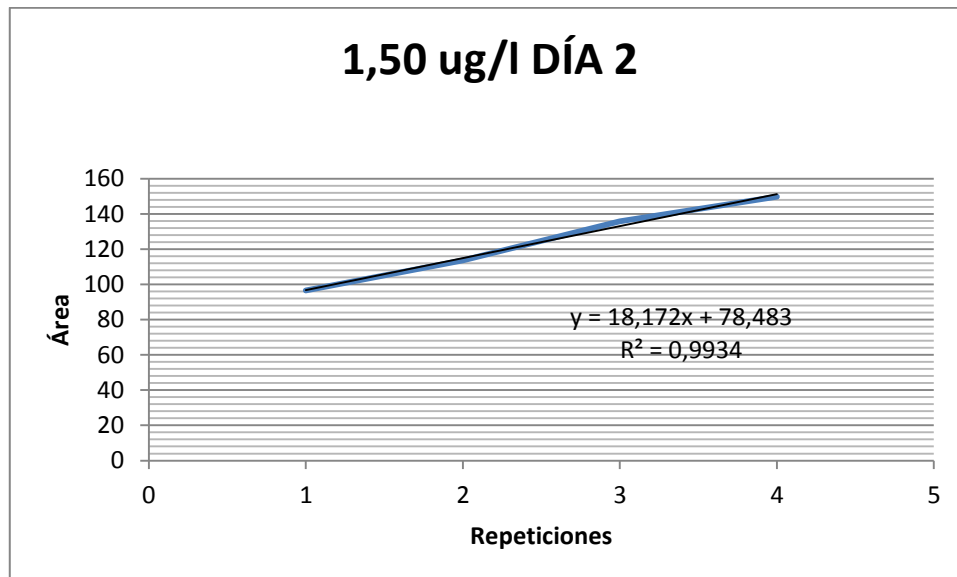


**Figura 39.** Curva de calibración 1,00 ug/l día 3 estándar 4.4'-DDD.

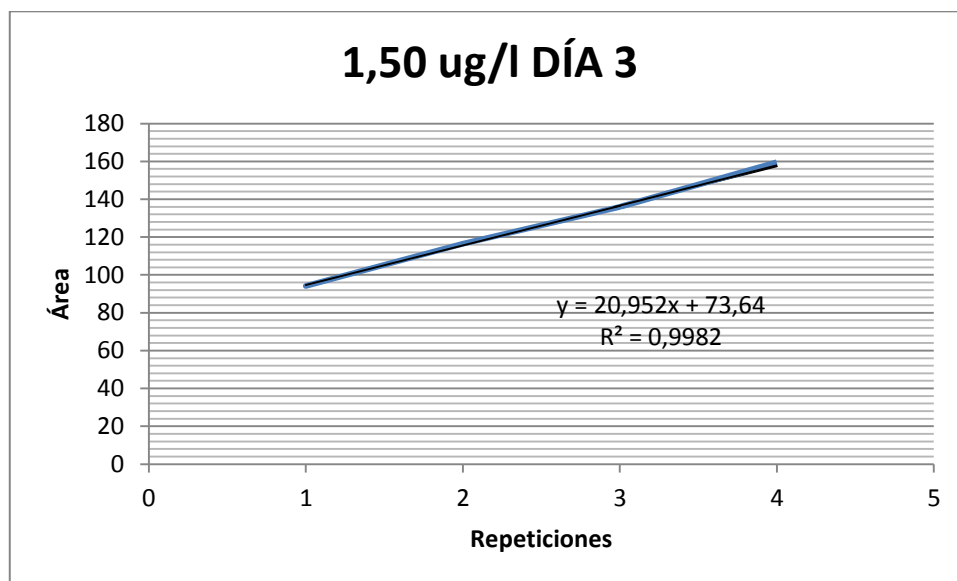




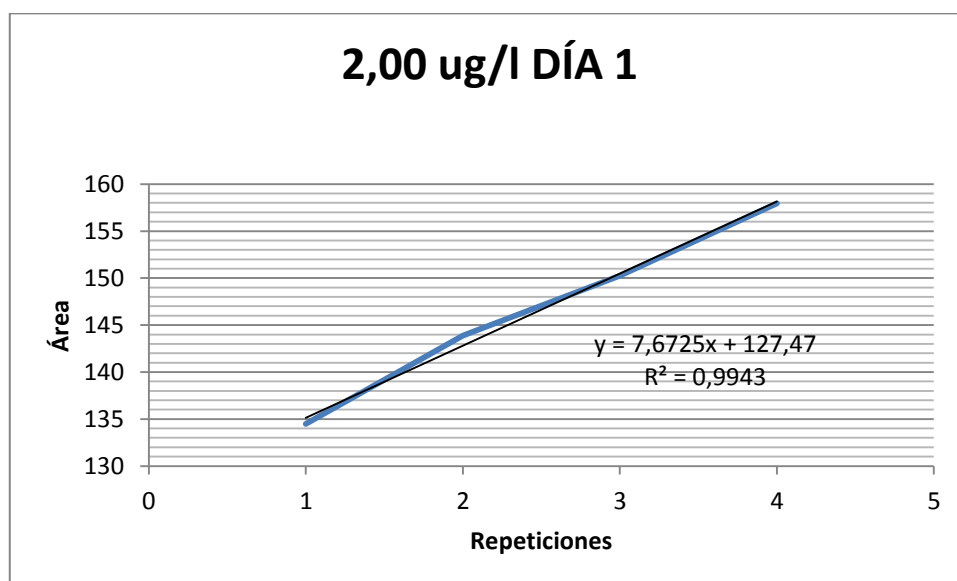
**Figura 40.** Curva de calibración 1,50 ug/l día 1 estándar 4.4'-DDD.



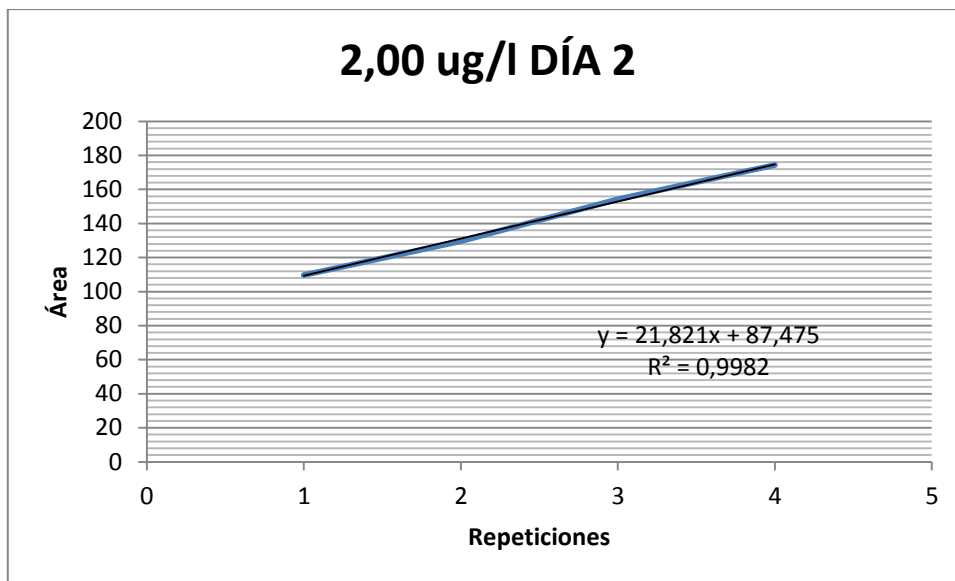
**Figura 41.** Curva de calibración 1,50 ug/l día 2 estándar 4.4'-DDD.



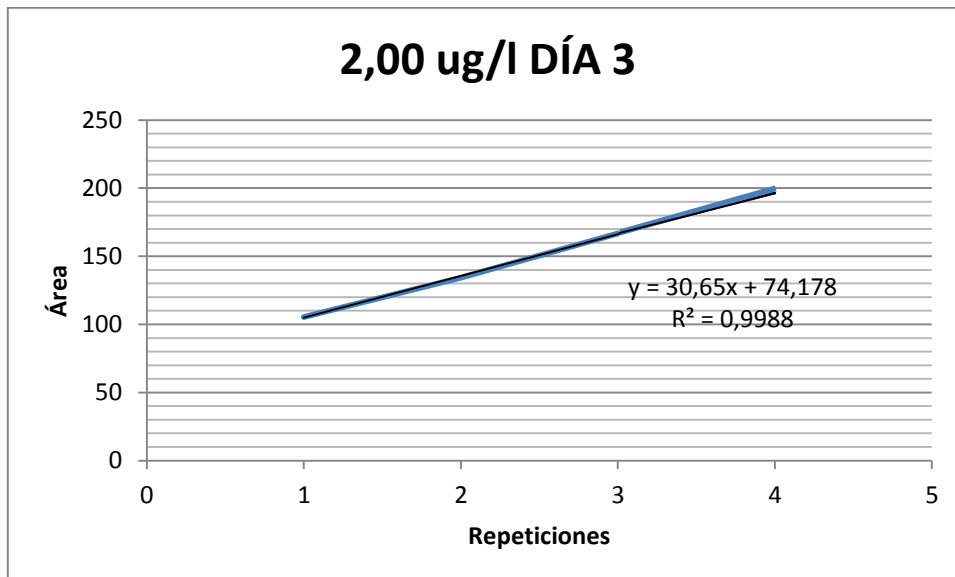
**Figura 42.** Curva de calibración 1,50 ug/l día 3 estándar 4.4'-DDD.



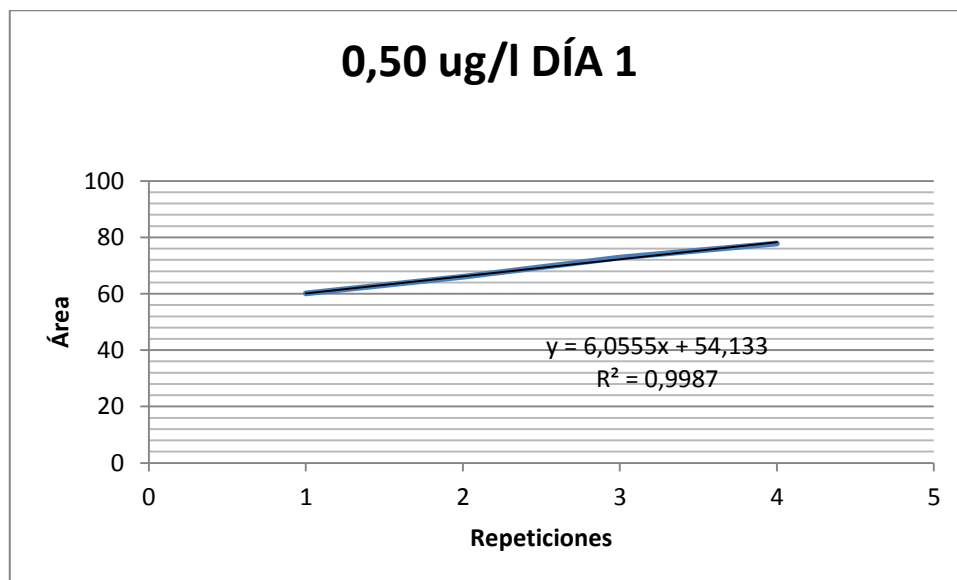
**Figura 43.** Curva de calibración 2,00 ug/l día 1 estándar 4.4'-DDD.



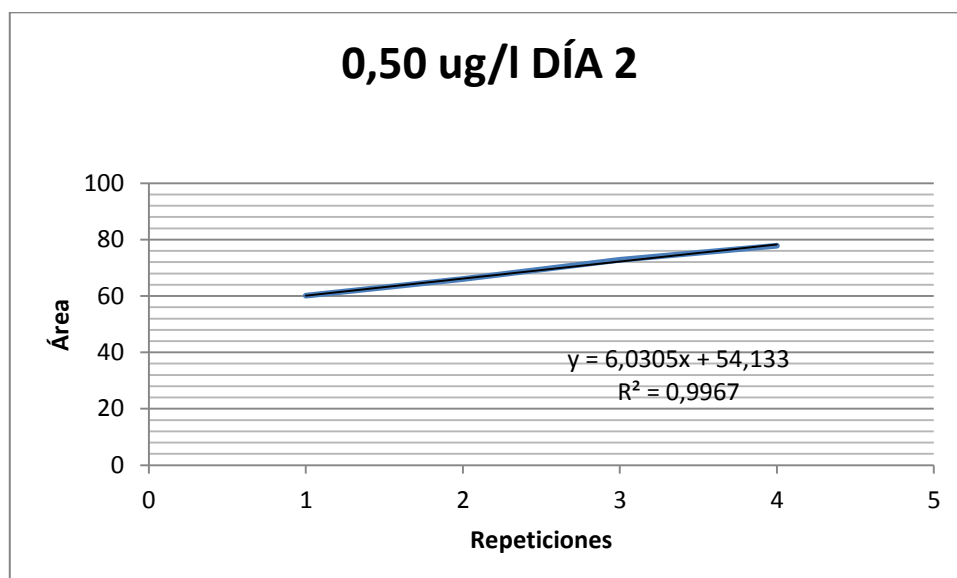
**Figura 44.** Curva de calibración 2,00 ug/l día 2 estándar 4.4'-DDD.



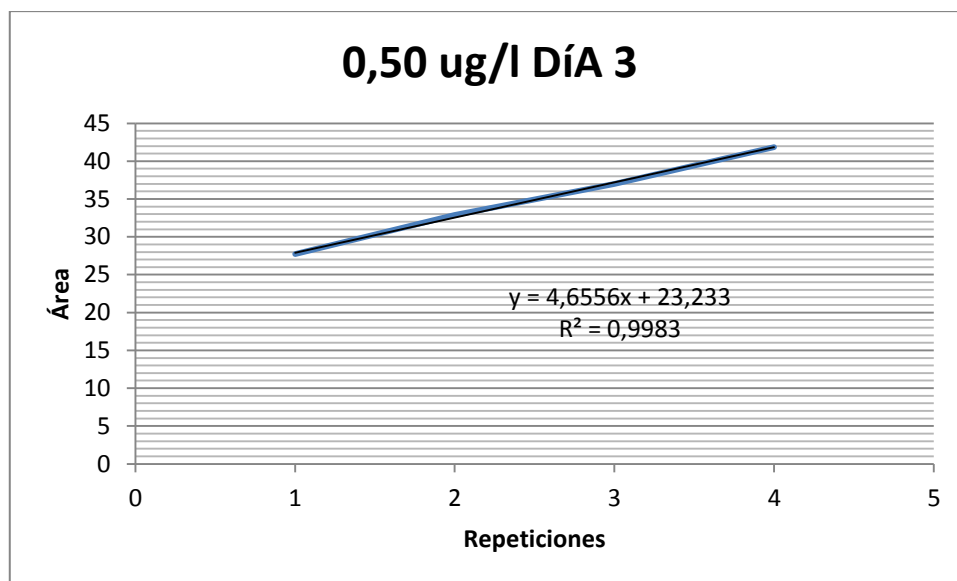
**Figura 45.** Curva de calibración 2,00 ug/l día 3 estándar 4.4'-DDD.

**CURVAS DEL 4.4'- DDE.**

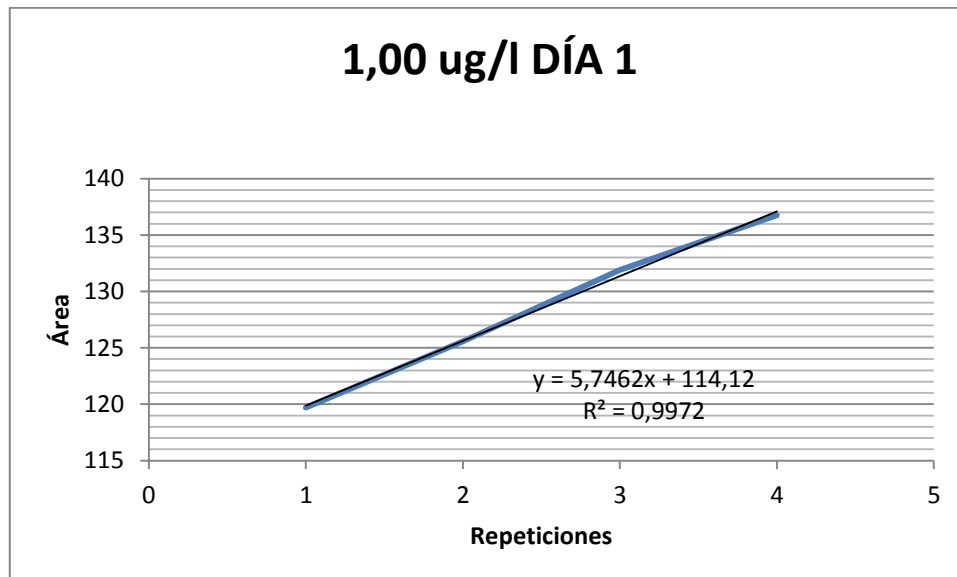
**Figura 46.** Curva de calibración 0,50 ug/l día 1 estándar 4.4'-DDE.



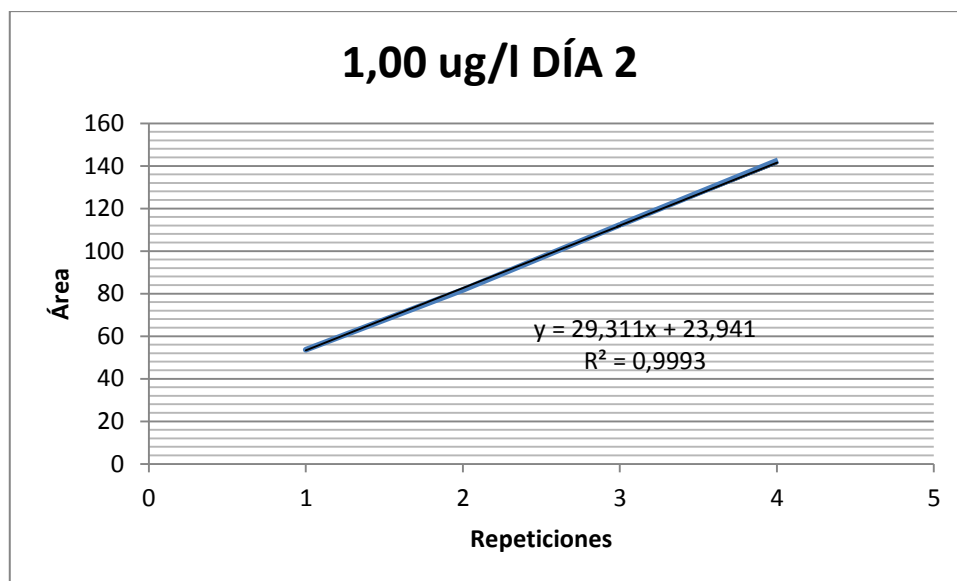
**Figura 47.** Curva de calibración 0,50 ug/l día 2 estándar 4.4'-DDE.



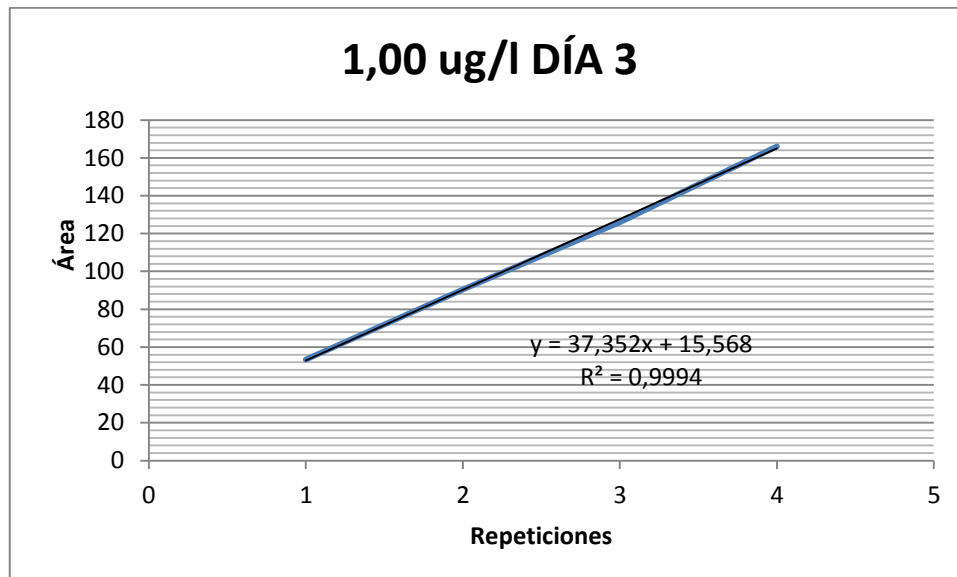
**Figura 48.** Curva de calibración 0,50 ug/l día 3 estándar 4.4'-DDE.



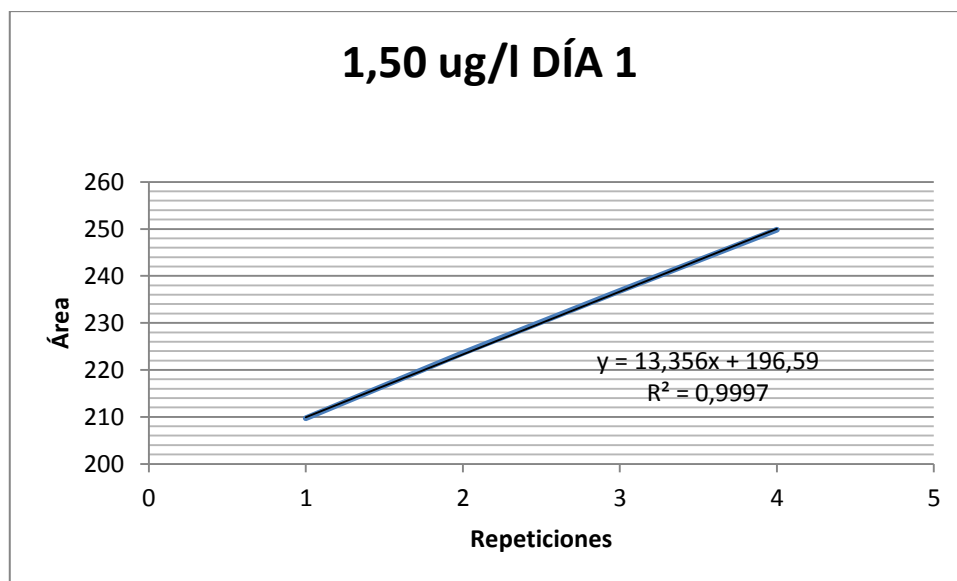
**Figura 49.** Curva de calibración 1,00 ug/l día 1 estándar 4.4'-DDE.



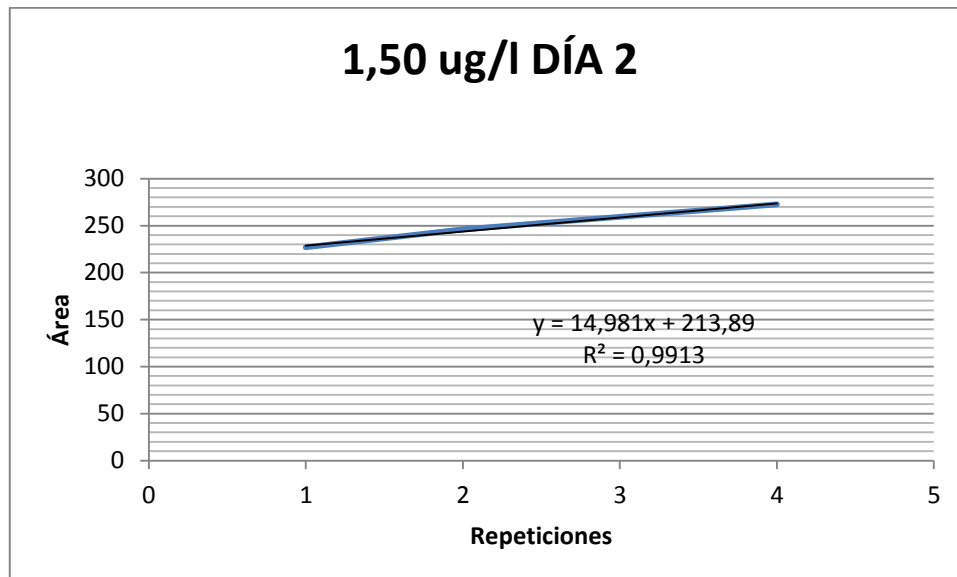
**Figura 50.** Curva de calibración 1,00 ug/l día 2 estándar 4.4'-DDE.



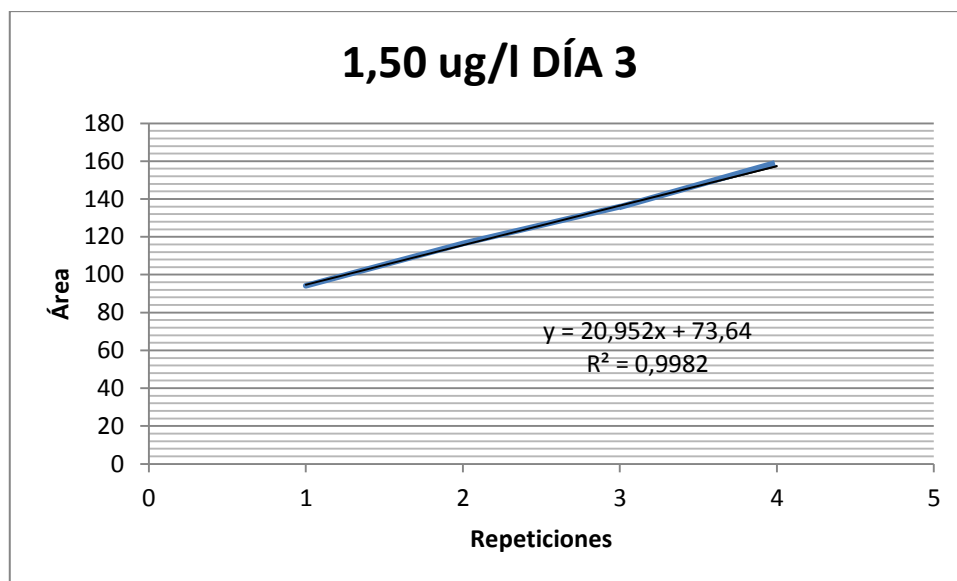
**Figura 51.** Curva de calibración 1,00 ug/l día 3 estándar 4.4'-DDE.



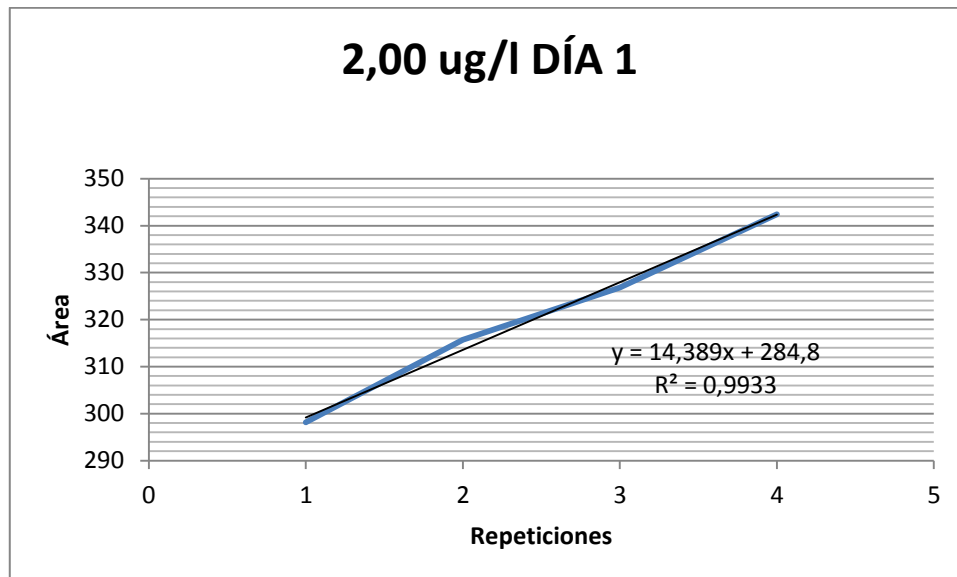
**Figura 52.** Curva de calibración 1,50 ug/l día 1 estándar 4.4'-DDE.



**Figura 53.** Curva de calibración 1,50 ug/l día 2 estándar 4.4'-DDE.

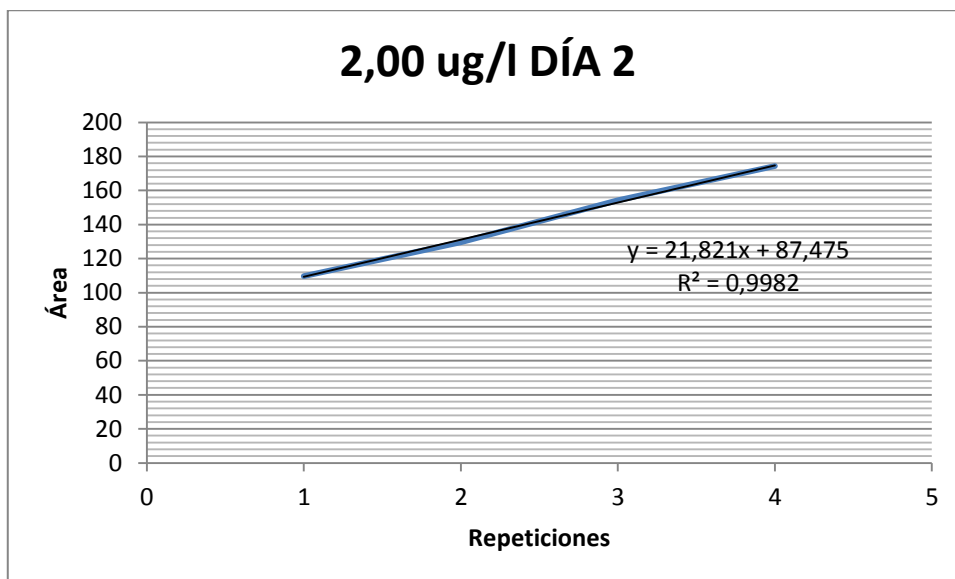


**Figura 54.** Curva de calibración 1,50 ug/l día 3 estándar 4.4'-DDE.

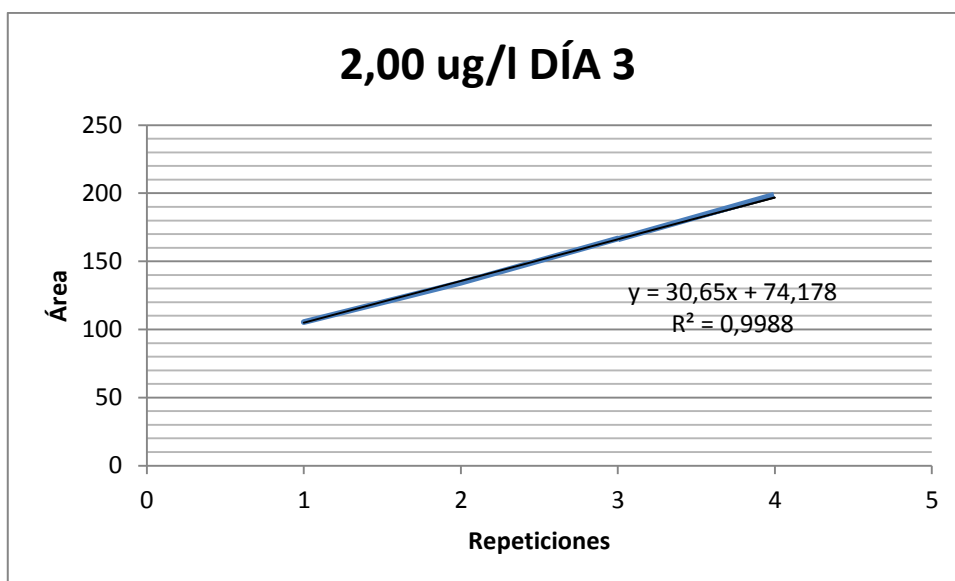


**Figura 55.** Curva de calibración 2,00 ug/l día 1 estándar 4.4'-DDE.





**Figura 56.** Curva de calibración 2,00 ug/l día 2 estándar 4.4'-DDE.



**Figura 57.** Curva de calibración 2,00 ug/l día 3 estándar 4.4'-DDE.

## GRÁFICOS Y DATOS DEL EQUIPO.

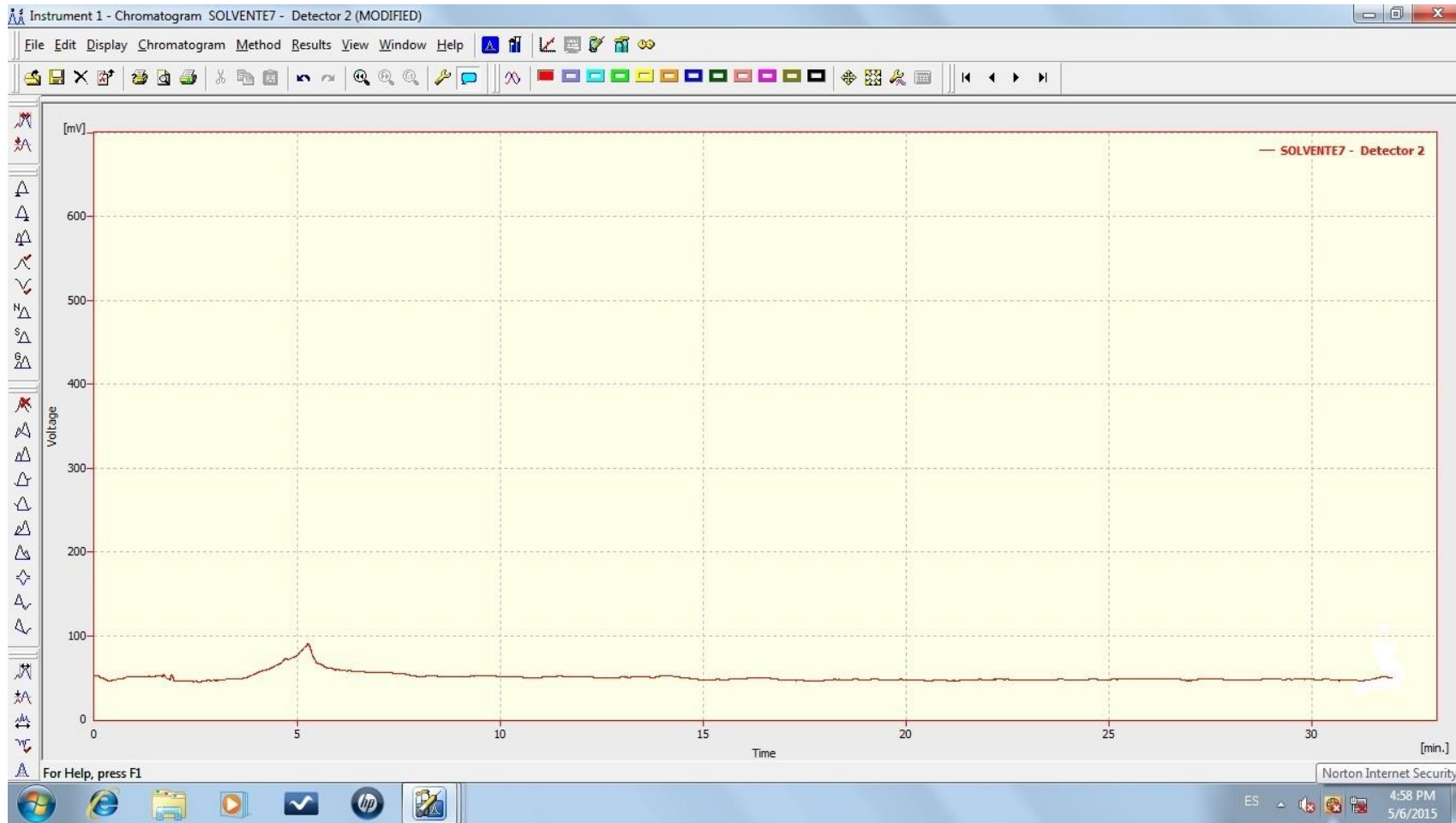


Gráfico 11. Línea base final óptima (cromatograma).



Gráfico 14. Identificación del DDT.

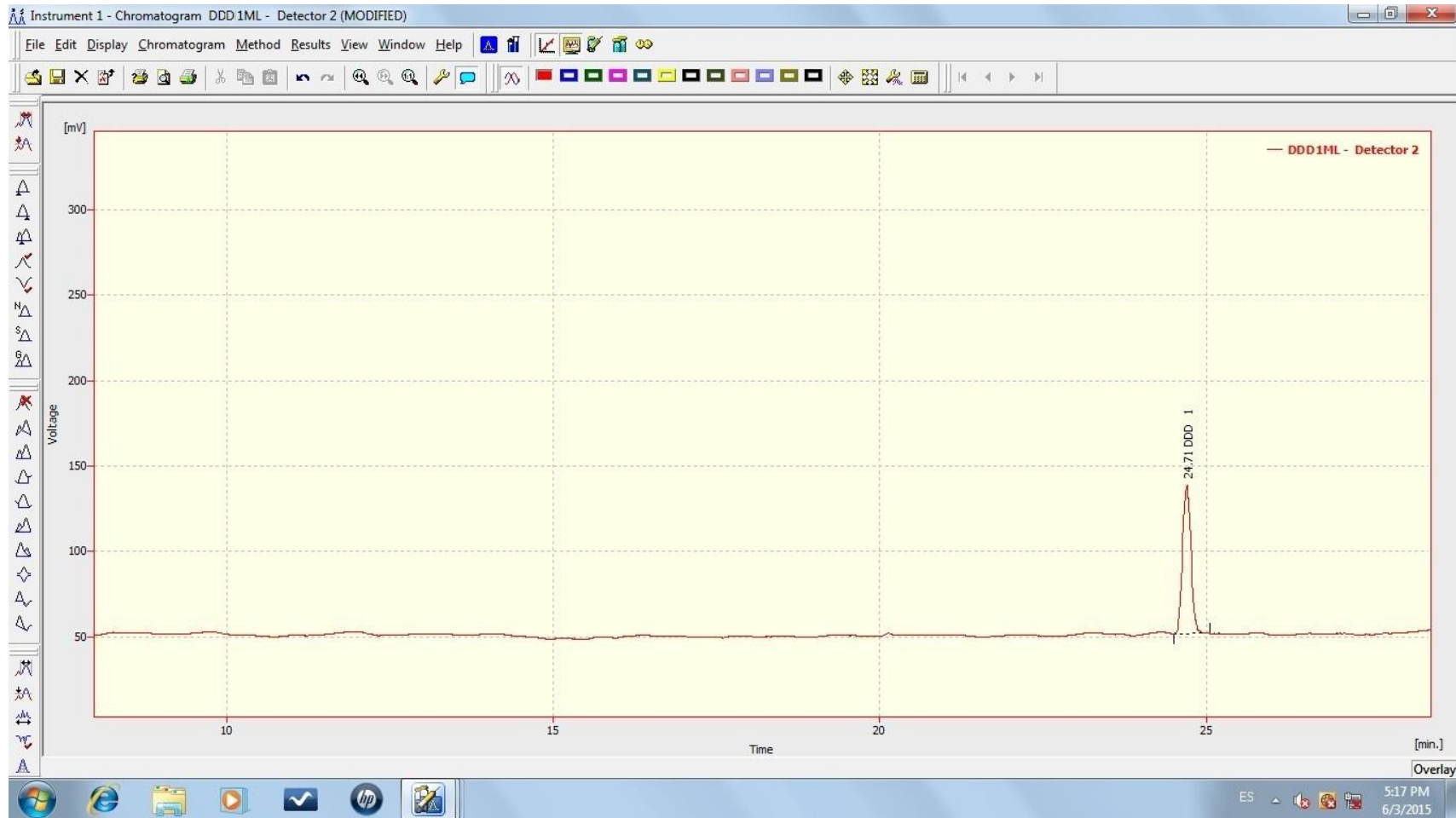


Gráfico 15. Identificación del DDD.

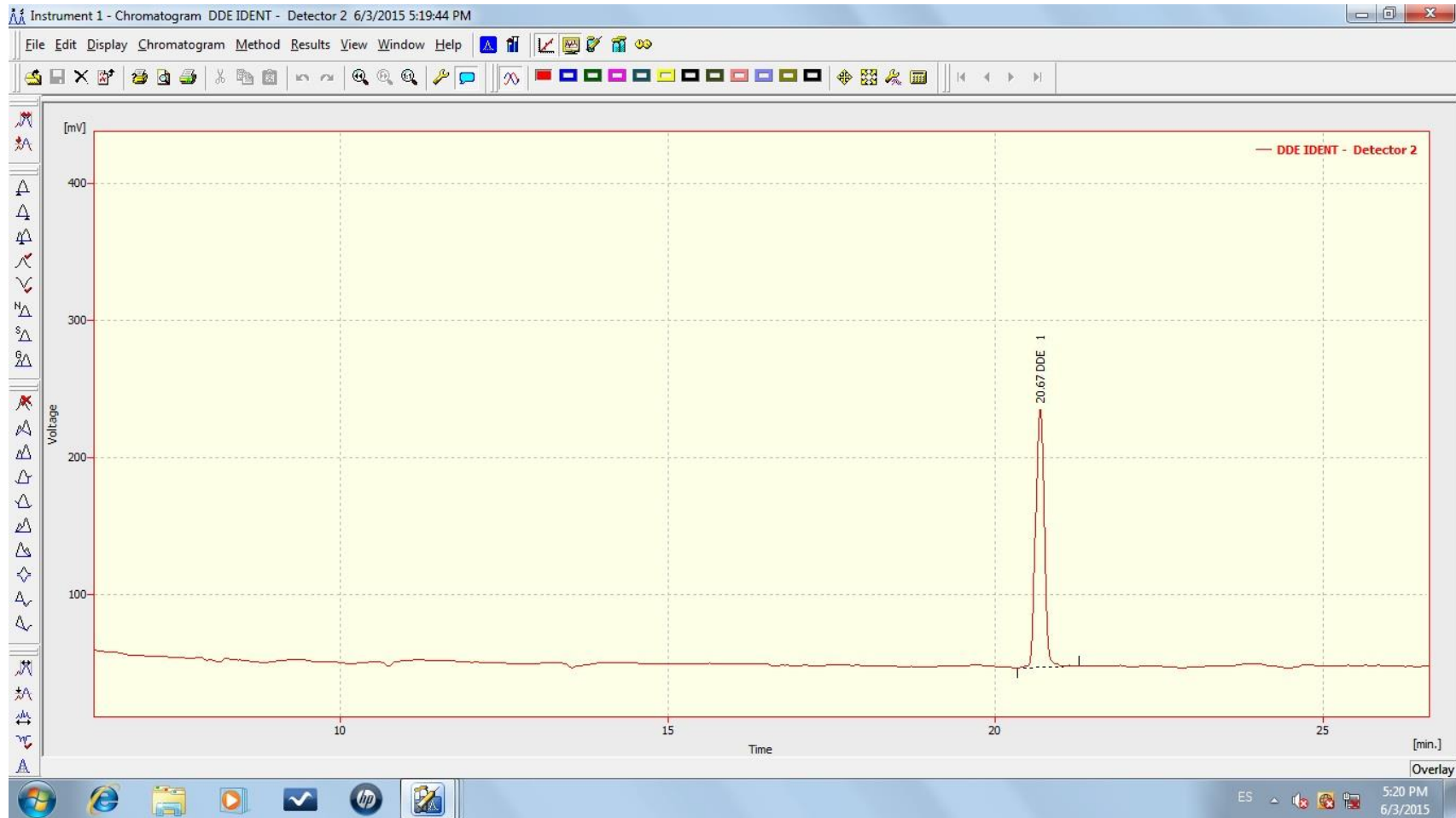


Gráfico 16. Identificación del DDE.

Instrument 1 - Calibration CALIBRACIÓN PLAGUICIDAS ORGANOCLORADOS <-- ESTD (MODIFIED)

File Edit Display Calibration View Window Help

12 Automatic Calibration

Calibration Summary Table (ESTD - CALIBRACIÓN PLAGUICIDAS ORGANOCLORADOS - Signal 1)

Use d	Compound Name	Reten. Time	Left Window	Right Window	Peak Type	LOD	LOQ	RB	Resp. Factor	Level 12			
										Response	Amount	Resp. Fact	Rec No.
1	4,4'-DDE	22.005	0.200 min	0.200 min	Ordnr	0.495	0.568	A	0.0000	147.3690	0.481	0.0033	1
2	4,4'-DDD	24.469	0.200 min	0.200 min	Ordnr	0.432	0.620	A	0.0000	34.5080	0.354	0.0103	1
3	4,4'-DDT	26.993	0.200 min	0.200 min	Ordnr	0.470	0.504	A	0.0000	79.3780	0.483	0.0061	1

Calibration Options (CALIBRACIÓN PLAGUICIDAS O...)

Calibration Options Defaults

Calibration Description: 4,4'-DDT, 4,4'-DDD y 4,4'-DDE Display Mode ESTD

Number of Signals 1

Calibration:  Automatic  Manual Mode:  Calibrate  Recalibrate

Units: Compound: ug/L

Curve Check:  Deviation 17 %  Correlation 0.99

Recalibration:  Replace  Average No. of Points 4 Weight:  Weight Weighting Factor 0.25 Search Criteria 0 %

Enable Response Value Change  
 Update Retention Time  
 Default Injected Volume 0.002 mL  
 Update Calibration Responses  
 Retention Indexes with Unretained Peak  
 Response Factor as Response / Amount

Aceptar Cancelar Ayuda

Compounds 4,4'-DDE 4,4'-DDD 4,4'-DDT

For Help, press F1

ES 4:57 PM 6/3/2015

Gráfico 20. Límites de detección y cuantificación 4,4'-DDT, 4,4'-DDD y 4,4'-DDE.

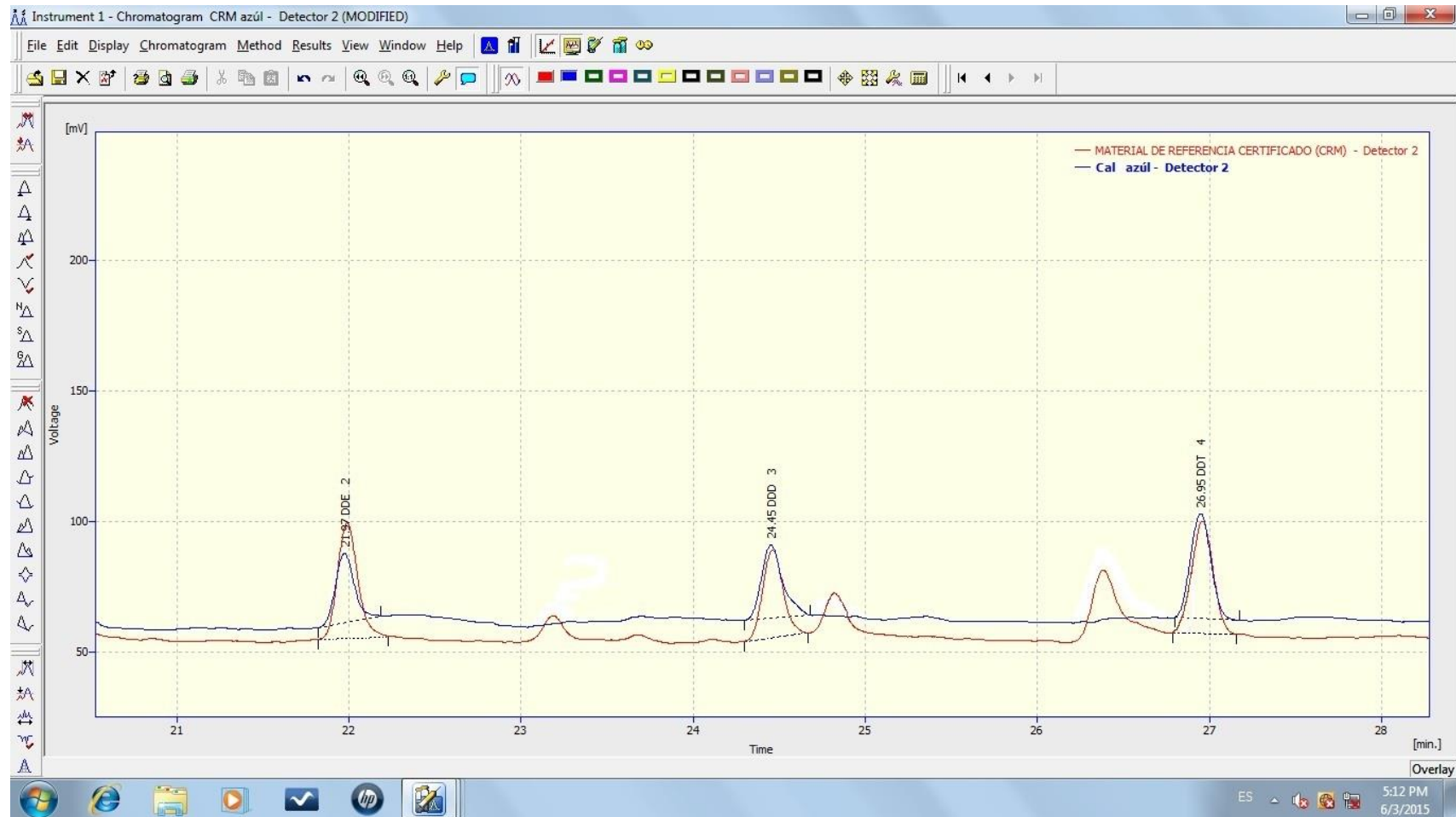


Gráfico 21. Cuantificación 4,4'-DDT, 4,4'-DDD, 4,4'-DDE y CRM.

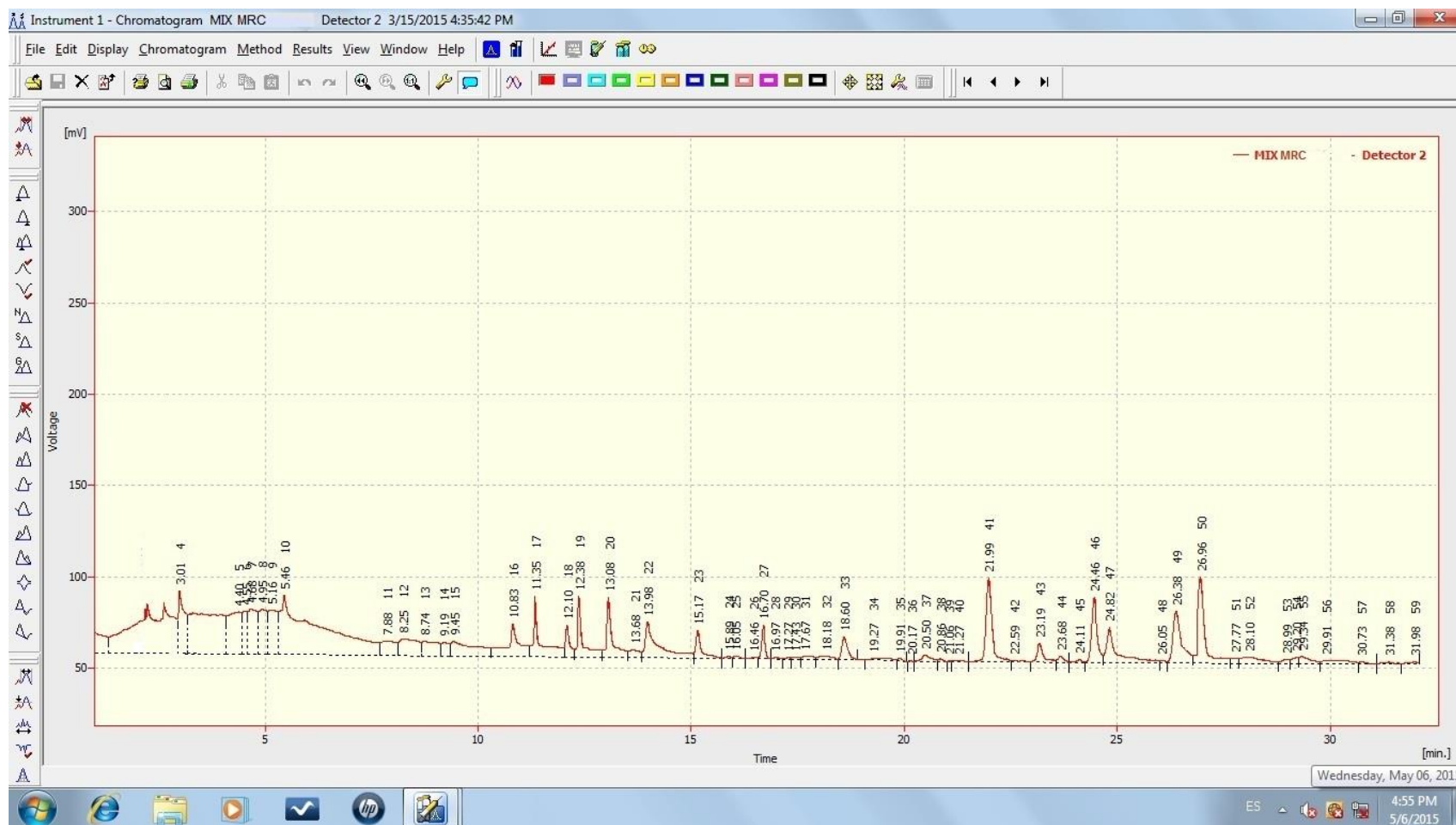


Gráfico 24. Corrida material de referência certificado (CRM).



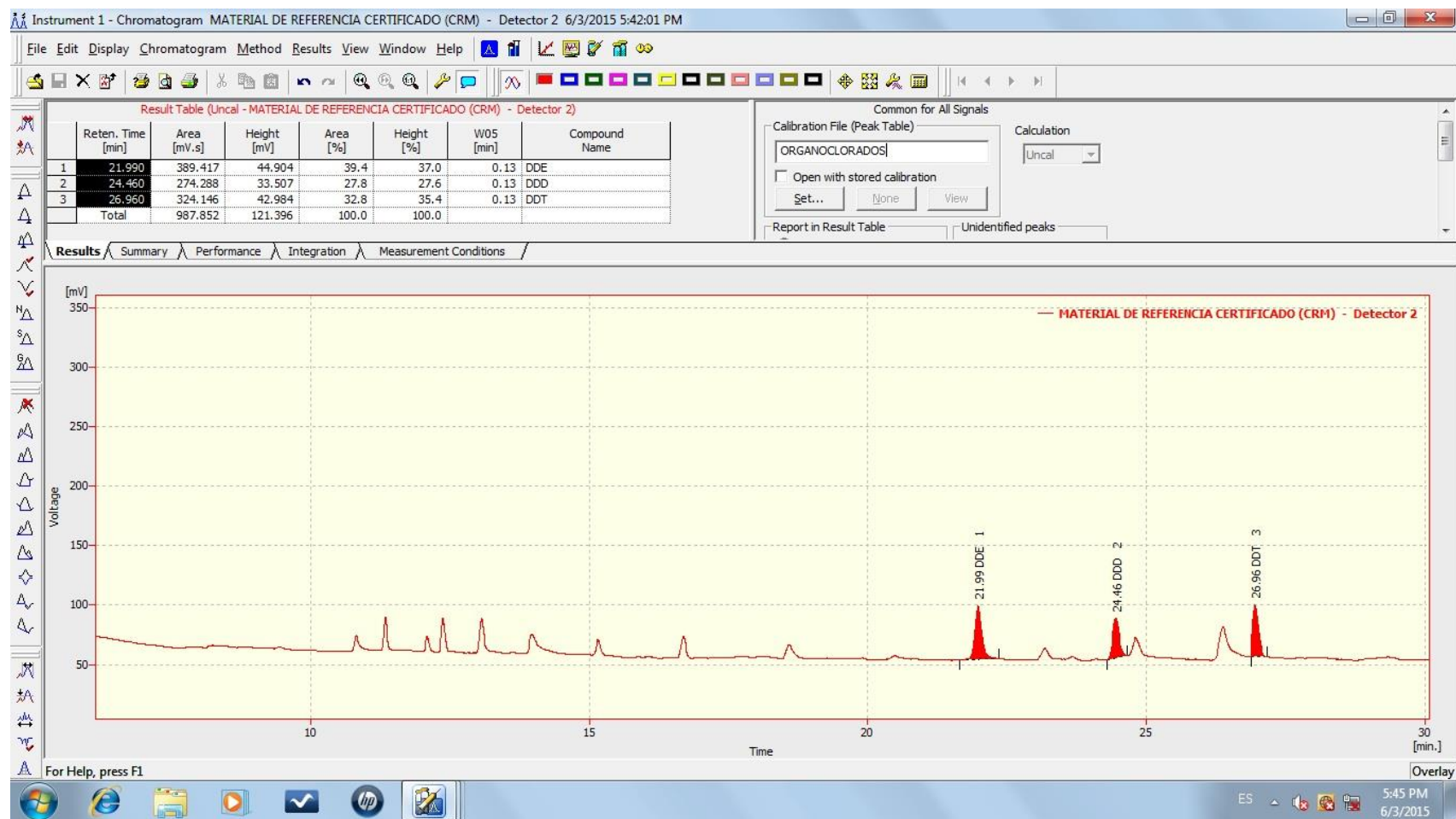


Gráfico 25. Picos estándares vs material de referencia certificado (CRM).

7/10/2015 9:36 PM

Calibration C:\YLClarity\PABLO AGUIRRE\Calib\CALIBRACIÓN PLAGUICIDAS ORGANOCOLORADOS.CAL

Page 1 of 4



## Clarity - Chromatography SW

DataApex 2006  
www.dataapex.com

Calibration : CALIBRACIÓN PLAGUICIDAS ORGANOCOLORADOS  
Description : 4,4'- DDT, 4,4'-DDD y 4,4'-DDE  
Created : 6/3/2015 4:47:58 PM

By : Administrator

Modified : 7/10/2015 9:34:47 PM

Calculation : ESTD  
Calibrate : Automatic  
Change Response : Enable  
Update Reten. Time : Enable  
Deviation Limit : Not Used  
Default Injected Volume : 0.00

Mode : Calibrate  
Recalibration Type : Weight  
Weight : 0.25  
Search Criteria : 0.00%  
Correlation Limit : 0.99

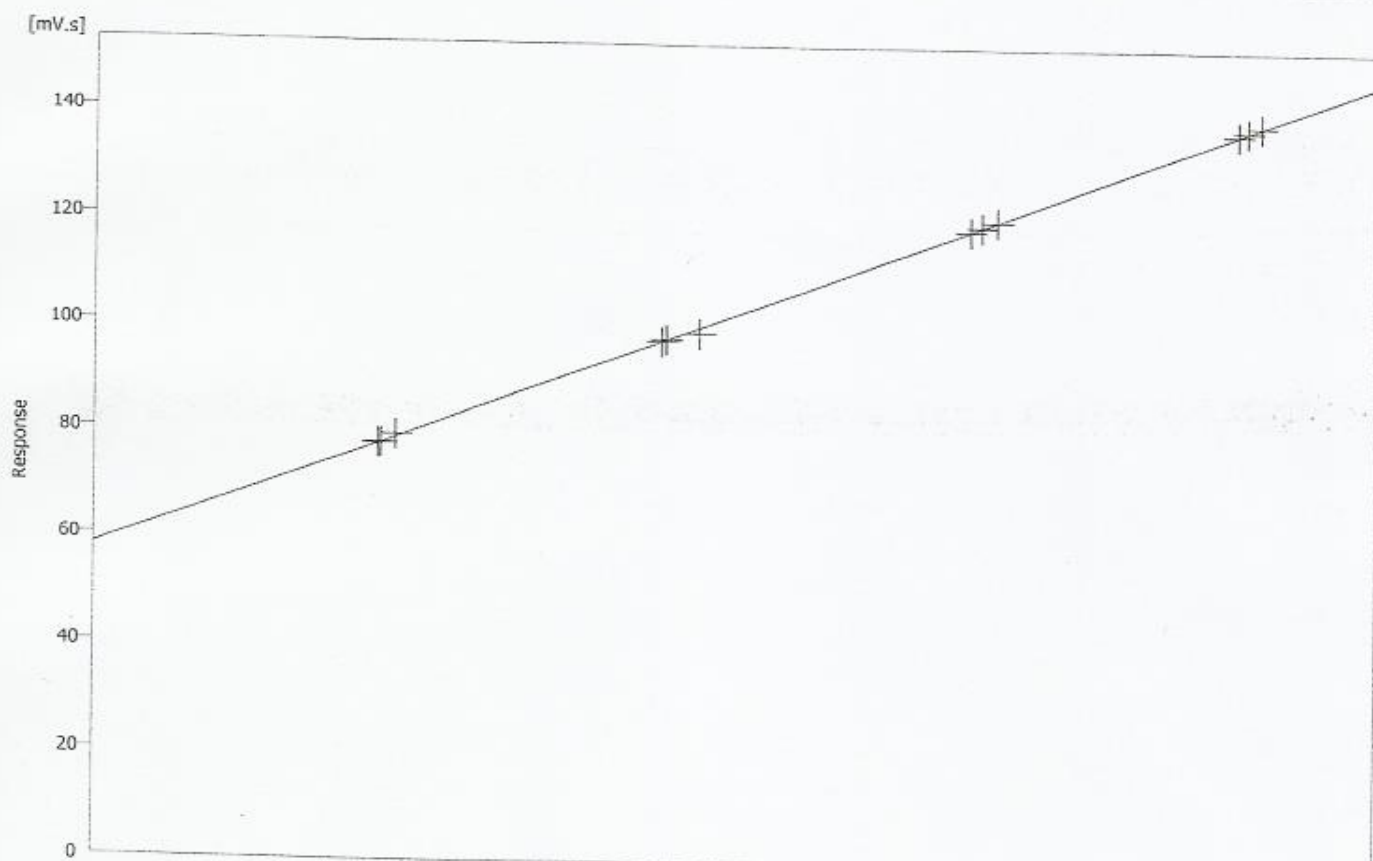
Calibration Summary Table (ESTD - CALIBRACIÓN PLAGUICIDAS ORGANOCOLORADOS - Signal 1)

Used	Compound Name	Reten. Time	Left Window	Right Window	Peak Type	LOD	LOQ	RB	Resp. Factor
<input checked="" type="checkbox"/>	4,4'- DDE	22.005	0.200 min	0.200 min	Ordnr	0.495	0.568	A	0.0000
<input checked="" type="checkbox"/>	4,4'-DDD	24.469	0.200 min	0.200 min	Ordnr	0.432	0.620	A	0.0000
<input checked="" type="checkbox"/>	4,4'- DDT	26.993	0.200 min	0.200 min	Ordnr	0.470	0.504	A	0.0000

4.4- DDT - Signal 1 - 26.993 min.

Compound Type : Ordnr  
 Left Window : 0.2 min  
 Right Window : 0.2 min  
 Response Base : Area  
 Curve Fit Type : Linear  
 Origin : Ignore Origin  
 Weighting Method : None  
 Equation :  $Y = 42.83189 * X + 58.16588$   
 Correlation Factor : 0.9998813  
 Residuum : 0.3463 [mV.s]  
 Linearisation X : None  
 Linearisation Y : None  
 Curve Check : OK

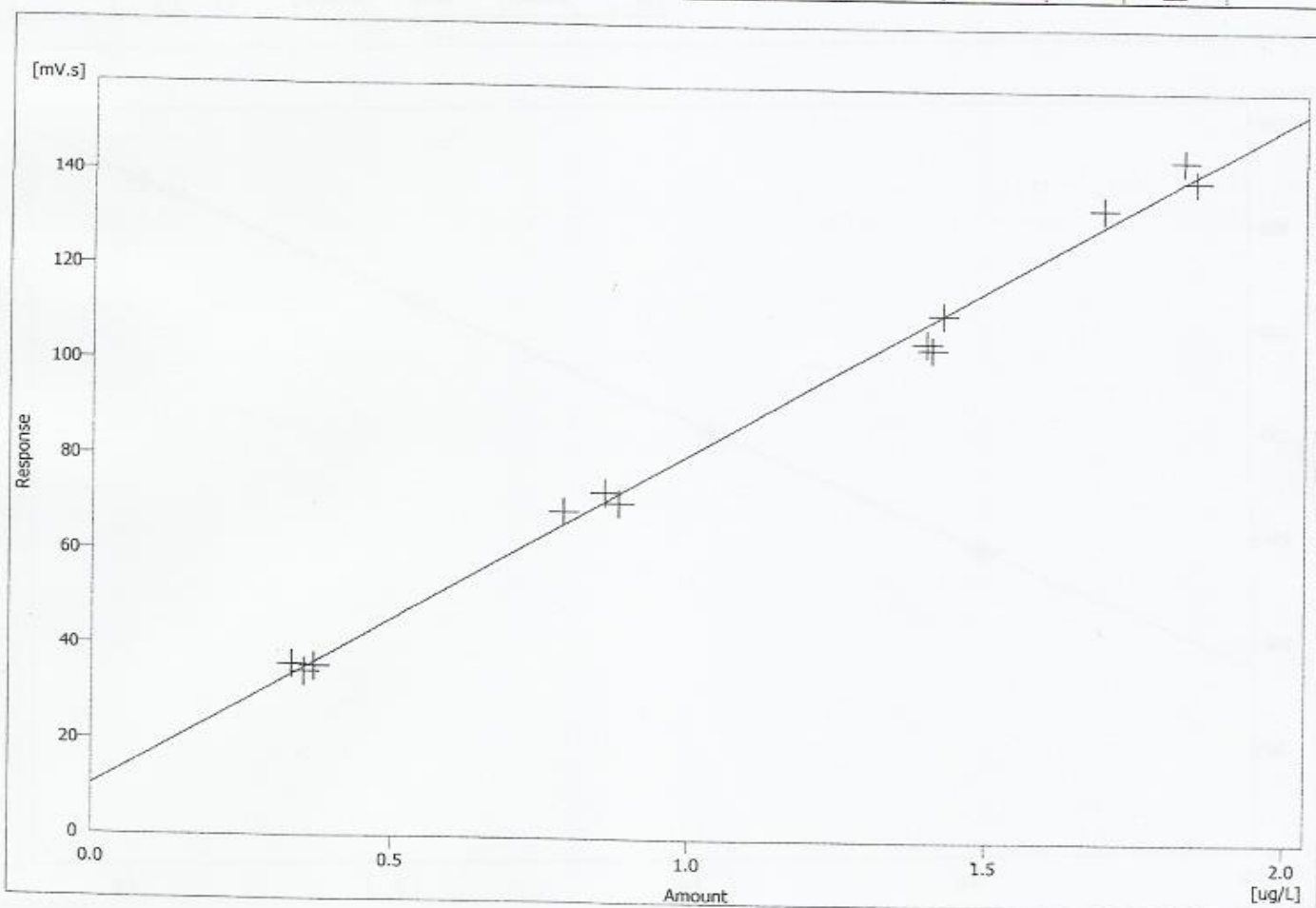
	Response	Amount	Resp. Factor	Rec No.	Used	Deviation [%]
1	137.9190	1.8600	0.0135	1	<input checked="" type="checkbox"/>	-0.1076
2	137.2540	1.8450	0.0134	1	<input checked="" type="checkbox"/>	-0.0800
3	138.8760	1.8820	0.0136	1	<input checked="" type="checkbox"/>	-0.1245
4	118.7360	1.4130	0.0119	1	<input checked="" type="checkbox"/>	-0.0803
5	119.5220	1.4310	0.0120	1	<input checked="" type="checkbox"/>	-0.1038
6	120.5810	1.4560	0.0121	1	<input checked="" type="checkbox"/>	-0.0831
7	97.6880	0.9220	0.0094	1	<input checked="" type="checkbox"/>	-0.0787
8	97.3390	0.9140	0.0094	1	<input checked="" type="checkbox"/>	-0.0632
9	98.9080	0.9760	0.0099	1	<input checked="" type="checkbox"/>	2.6061
10	77.6790	0.4540	0.0058	1	<input checked="" type="checkbox"/>	-0.3456
11	77.8260	0.4590	0.0059	1	<input checked="" type="checkbox"/>	-0.0015
12	79.3780	0.4830	0.0061	1	<input checked="" type="checkbox"/>	-2.4718
13	0.0000	0.0000	0.0000	1	<input type="checkbox"/>	-
14	0.0000	0.0000	0.0000	1	<input type="checkbox"/>	-
15	0.0000	0.0000	0.0000	1	<input type="checkbox"/>	-
16	0.0000	0.0000	0.0000	1	<input type="checkbox"/>	-
17	0.0000	0.0000	0.0000	1	<input type="checkbox"/>	-
18	0.0000	0.0000	0.0000	1	<input type="checkbox"/>	-
19	0.0000	0.0000	0.0000	1	<input type="checkbox"/>	-
20	0.0000	0.0000	0.0000	1	<input type="checkbox"/>	-
BL	0.0000	Blank	0.0000	1	<input type="checkbox"/>	-



4,4'-DDD - Signal 1 - 24.469 min.

Compound Type : Ordnr  
 Left Window : 0.2 min  
 Right Window : 0.2 min  
 Response Base : Area  
 Curve Fit Type : Linear  
 Origin : Ignore Origin  
 Weighting Method : None  
 Equation :  $Y = 70.58196 * X + 10.3636$   
 Correlation Factor : 0.9969789  
 Residuum : 3.01792 [mV.s]  
 Linearisation X : None  
 Linearisation Y : None  
 Curve Check : OK

	Response	Amount	Resp. Factor	Rec No.	Used	Deviation [%]
1	143.9860	1.8280	0.0127	1	<input checked="" type="checkbox"/>	-3.4415
2	133.4900	1.6940	0.0127	1	<input checked="" type="checkbox"/>	-2.8918
3	139.4950	1.8500	0.0133	1	<input checked="" type="checkbox"/>	1.1192
4	110.9830	1.4250	0.0128	1	<input checked="" type="checkbox"/>	-0.0399
5	103.6580	1.4070	0.0136	1	<input checked="" type="checkbox"/>	6.4467
6	104.9870	1.3980	0.0133	1	<input checked="" type="checkbox"/>	4.2803
7	72.8960	0.8580	0.0118	1	<input checked="" type="checkbox"/>	-3.1553
8	68.7860	0.7890	0.0115	1	<input checked="" type="checkbox"/>	-4.6784
9	70.7330	0.8820	0.0125	1	<input checked="" type="checkbox"/>	3.1206
10	35.9980	0.3330	0.0093	1	<input checked="" type="checkbox"/>	-8.3115
11	35.6780	0.3700	0.0104	1	<input checked="" type="checkbox"/>	3.1639
12	34.5080	0.3540	0.0103	1	<input checked="" type="checkbox"/>	3.4857
13	0.0000	0.0000	0.0000	1	<input type="checkbox"/>	-
14	0.0000	0.0000	0.0000	1	<input type="checkbox"/>	-
15	0.0000	0.0000	0.0000	1	<input type="checkbox"/>	-
16	0.0000	0.0000	0.0000	1	<input type="checkbox"/>	-
17	0.0000	0.0000	0.0000	1	<input type="checkbox"/>	-
18	0.0000	0.0000	0.0000	1	<input type="checkbox"/>	-
19	0.0000	0.0000	0.0000	1	<input type="checkbox"/>	-
20	0.0000	0.0000	0.0000	1	<input type="checkbox"/>	-
BL	0.0000	Blank	0.0000	1	<input type="checkbox"/>	-



4,4'- DDE - Signal 1 - 22.005 min.

Compound Type : Ordnr  
 Left Window : 0.2 min  
 Right Window : 0.2 min  
 Response Base : Area  
 Curve Fit Type : Linear  
 Origin : Ignore Origin  
 Weighting Method : None  
 Equation :  $Y = 122.21787 * X + 88.56318$   
 Correlation Factor : 0.9999999  
 Residuum : 0.02204 [mV.s]  
 Linearisation X : None  
 Linearisation Y : None  
 Curve Check : OK

	Response	Amount	Resp. Factor	Rec No.	Used	Deviation [%]
1	327.8690	1.9580	0.0060	1	<input checked="" type="checkbox"/>	-0.0013
2	322.2610	1.9120	0.0059	1	<input checked="" type="checkbox"/>	-0.0074
3	328.6850	1.9650	0.0060	1	<input checked="" type="checkbox"/>	0.0151
4	269.9510	1.4840	0.0055	1	<input checked="" type="checkbox"/>	-0.0091
5	268.0010	1.4680	0.0055	1	<input checked="" type="checkbox"/>	-0.0122
6	269.9510	1.4840	0.0055	1	<input checked="" type="checkbox"/>	-0.0091
7	205.8560	0.9600	0.0047	1	<input checked="" type="checkbox"/>	0.0310
8	205.0020	0.9530	0.0046	1	<input checked="" type="checkbox"/>	0.0299
9	202.3560	0.9310	0.0046	1	<input checked="" type="checkbox"/>	-0.0070
10	145.9980	0.4700	0.0032	1	<input checked="" type="checkbox"/>	0.0132
11	145.8960	0.4690	0.0032	1	<input checked="" type="checkbox"/>	-0.0220
12	147.3690	0.4810	0.0033	1	<input checked="" type="checkbox"/>	-0.0323
13	0.0000	0.0000	0.0000	1	<input type="checkbox"/>	-
14	0.0000	0.0000	0.0000	1	<input type="checkbox"/>	-
15	0.0000	0.0000	0.0000	1	<input type="checkbox"/>	-
16	0.0000	0.0000	0.0000	1	<input type="checkbox"/>	-
17	0.0000	0.0000	0.0000	1	<input type="checkbox"/>	-
18	0.0000	0.0000	0.0000	1	<input type="checkbox"/>	-
19	0.0000	0.0000	0.0000	1	<input type="checkbox"/>	-
20	0.0000	0.0000	0.0000	1	<input type="checkbox"/>	-
BL	0.0000	Blank	0.0000	1	<input type="checkbox"/>	-

