

1-1-2009

## **Determinación de la característica de toxicidad por lixiviación (TCLP) del ingrediente activo malatión en un plaguicida organofosforado mediante el procedimiento de TCLP**

Marisol Reinel Muñoz  
*Universidad de La Salle, Bogotá*

Follow this and additional works at: [https://ciencia.lasalle.edu.co/ing\\_ambiental\\_sanitaria](https://ciencia.lasalle.edu.co/ing_ambiental_sanitaria)

---

### **Citación recomendada**

Reinel Muñoz, M. (2009). Determinación de la característica de toxicidad por lixiviación (TCLP) del ingrediente activo malatión en un plaguicida organofosforado mediante el procedimiento de TCLP. Retrieved from [https://ciencia.lasalle.edu.co/ing\\_ambiental\\_sanitaria/276](https://ciencia.lasalle.edu.co/ing_ambiental_sanitaria/276)

This Trabajo de grado - Pregrado is brought to you for free and open access by the Facultad de Ingeniería at Ciencia Unisalle. It has been accepted for inclusion in Ingeniería Ambiental y Sanitaria by an authorized administrator of Ciencia Unisalle. For more information, please contact [ciencia@lasalle.edu.co](mailto:ciencia@lasalle.edu.co).

**DETERMINACION DE LA CARACTERISTICA DE TOXICIDAD POR  
LIXIVIACION (TCLP) DEL INGREDIENTE ACTIVO MALATION EN UN  
PLAGUICIDA ORGANOFOSFORADO MEDIANTE EL PROCEDIMIENTO DE  
TCLP**

**MARISOL REINEL MUÑOZ**

**UNIVERSIDAD DE LA SALLE  
FACULTAD DE INGENIERIA AMBIENTAL Y SANITARIA  
BOGOTÁ, D.C  
2009**

**DETERMINACION DE LA CARACTERISTICA DE TOXICIDAD POR  
LIXIVIACION (TCLP) DEL INGREDIENTE ACTIVO MALATION EN UN  
PLAGUICIDA ORGANOFOSFORADO MEDIANTE EL PROCEDIMIENTO DE  
TCLP**

**MARISOL REINEL MUÑOZ**

**Trabajo de Grado presentado para optar al Título de  
Ingeniero Ambiental y Sanitario**

**Director (a)**

**ROSALINA GONZALEZ FORERO**

**Ingeniera Química. Universidad Nacional**

**Msc. en Tecnología Educativa**

**UNIVERSIDAD DE LA SALLE  
FACULTAD DE INGENIERIA AMBIENTAL Y SANITARIA  
BOGOTÁ, D.C**

**2009**

**Nota de Aceptación**

---

---

---

---

---

**Ing. Rosalina González F.**  
**Director**

---

**Química YESMITH SANTOS**  
**Jurado**

---

**Ing. RICARDO CAMPOS**  
**Jurado**

**Bogotá D.C., 2009**

**FRASE DEDICATORIA**

*Al Ser que durante toda mi vida ha estado a mi lado  
brindándome todo su amor y ayuda incondicional,  
al que me ha enseñado que aunque a veces  
no veamos la salida al final esta ahí.*

## AGRADECIMIENTOS

A mi directora *Rosalina González Forero* por su guía y colaboración en el desarrollo de este proyecto.

A los *técnicos y personal de apoyo* del laboratorio de Ingeniería Ambiental de la Universidad de la Salle, por su asesoría.

A *Baudilio Acevedo* por su asesoría y colaboración en el trabajo de laboratorio.

A mis *Padres y seres amados* por su apoyo y comprensión durante todo este tiempo; y por su ejemplo de esfuerzo y dedicación.

A mis *Compañeros* por los momentos compartidos durante estos años.

## CONTENIDO

1.	OBJETIVOS .....	17
1.1	OBJETIVO GENERAL .....	17
1.2	OBJETIVOS ESPECIFICOS.....	17
2.	ANTECEDENTES .....	18
3.	MARCO TEÓRICO .....	21
3.1	PLAGUICIDA.....	21
3.2	CLASIFICACIÓN DE LOS PLAGUICIDAS .....	21
3.3	CONTAMINACION POR PLAGUICIDAS.....	22
3.3.1	Efectos en el medio ambiente.....	23
3.4	PLAGUICIDAS EN LA SALUD .....	27
3.4.1	Toxicidad y efectos.....	28
3.5	INSECTICIDAS ORGANOFOSFORADOS.....	31
3.5.1	MALATHION.....	32
3.6	MÉTODO Y PROCEDIMIENTO PARA DETERMINAR LA CARACTERÍSTICA DE TOXICIDAD POR LIXIVIACION (TCLP).....	34
3.6.1	SISTEMA TCLP .....	35
3.7	CROMATOGRAFIA DE GASES.....	36
3.7.1	Componentes del cromatógrafo de gases.....	37
3.8	VALIDACIÓN DEL MÉTODO INSTRUMENTAL PARA LA DETERMINACIÓN DE MALATIÓN MEDIANTE CROMATOGRAFÍA DE GASES.....	45
4	MARCO NORMATIVO .....	48
5	METODOLOGÍA.....	52
5.1	FASE PRELIMINAR .....	52
5.2	FASE EXPERIMENTAL.....	52
5.2.1	Procedimiento método TCLP.....	54
5.2.2	Procedimiento para el análisis de cromatografía de gases .....	61
5.3	IDENTIFICACIÓN DEL IMPACTO AMBIENTAL .....	66
6	ANÁLISIS Y RESULTADOS.....	70

6.1	EVALUACIÓN DE RESULTADOS SOBRE LA SALUD Y MEDIO AMBIENTE .....	72
6.2	VALORACIÓN DE LOS IMPACTOS .....	74
6.3	PROTOCOLOS DE PROCEDIMIENTO .....	78
6.3.1	PROTOCOLO TCLP.....	78
6.3.2	PROTOCOLO DE CROMATOGRAFÍA DE GASES .....	80
7	CONCLUSIONES .....	82
8	RECOMENDACIONES .....	84
9	BIBLIOGRAFIA .....	85



## LISTA DE TABLAS

Tabla N°1. Clasificación general de los Plaguicidas.....	22
Tabla N°2. Características del plaguicida Malathion 57% EC.....	33
Tabla N°3. Especificaciones del Sistema TCLP.....	36
Tabla N°4. Normatividad Internacional.....	49
Tabla N°5. Normatividad Nacional.....	50
Tabla N°6. Modelo de la matriz de importancia del impacto.....	67
Tabla N°7. Tabla de Resultados.....	71
Tabla N°8. Comparación de Toxicidad.....	73
Tabla N°9. Matriz de importancia del impacto.....	75

## LISTA DE FIGURAS

Figura N°1.	Fórmula Química de la Acetilcolina.....	32
Figura N°2.	Presentación plaguicida Malathion 57% EC.....	33
Figura N°3.	Sistema TcIp .....	35
Figura N°4.	Cromatógrafo de gases.....	37
Figura N°5.	Sistema de Inyección para cromatografía.....	38
Figura N°6.	Columna capilar.....	40
Figura N°7.	Detector FID.....	41
Figura N°8.	Cromatograma.....	44
Figura N°9.	Cromatograma de la mezcla estándar.....	47
Figura N°10.	Diagrama fase experimental.....	53
Figura N° 11.	Diagrama de flujo. Método 1311 de la EPA.....	54
Figura N°12.	Determinación del porcentaje de sólidos.....	57
Figura N°13.	Determinación de la solución lixiviante.....	58
Figura N°14.	Agitación de la muestra en sistema TCLP.....	60
Figura N° 15.	Extracción de la muestra.....	62
Figura N° 16.	Cromatograma de diclorometano.....	65
Figura N°17.	Cromatograma de malatión.....	65

## **LISTA DE ANEXOS**

- Anexo N°1. Hoja de seguridad Del plaguicida Malathion
- Anexo N°2. Método 1311 de la EPA. (Medio Magnético).
- Anexo N°3. Validación del método instrumental para la determinación de Clorpirifos y malation mediante cromatografía de gases de alta resolución con detección por ionización de llama.
- Anexo N°4. Método 3510C de la EPA. (Medio Magnético).
- Anexo N°5. Cromatogramas
- Anexo N°6. Muestra de cálculo de resultados. (Medio Magnético).
- Anexo N°7. Protocolo de procedimiento para El método TCLP
- Anexo N°8. Protocolo de procedimiento para cromatografía de gases en compuestos organofosforados
- Anexo N°9. Método 8141<sup>a</sup>. (Medio Magnético).

## GLOSARIO

**Acetilcolina:** Es uno de los neurotransmisores más importantes del sistema nervioso periférico como en el sistema nervioso central, participa en la regulación de diversas funciones como fenómenos de activación cortical, y procesos de memoria y asociación.

**Acetilcolinesterasa:** Es una enzima que hidroliza a la acetilcolina, produce la inactivación de la acetilcolina, con la consiguiente disminución de la transmisión del impulso nervioso.<sup>1</sup>

**Adsorción:** Fenómeno físico-químico que consiste en la fijación de moléculas, iones, gas, líquido o sólido, es la tendencia de enlace de una sustancia a la superficie de la otra cuando los iones o moléculas en solución tienden a agruparse.<sup>2</sup>

**Analito:** Es el componente de interés analítico de una muestra, de la cual se desea conocer su presencia o concentración, es decir, de la cual se puede determinar su cantidad y concentración en un proceso de medición química.

**Biocidas:** Son productos tóxicos que se utilizan para reducir la población de microorganismos presentes en algunos sistemas.<sup>3</sup>

---

<sup>1</sup> Bioquímica Ambiental, neurotoxicidad de organofosforados y carbamatos.  
[http://www2.uah.es/tejedor\\_bio/bioquimica\\_ambiental/tema12/tem2012-acetilcolinesterasa.htm](http://www2.uah.es/tejedor_bio/bioquimica_ambiental/tema12/tem2012-acetilcolinesterasa.htm).

Guía académica, (Citado 13 de Agosto de 2008).

<sup>2</sup> DAGMAR HERRERA. Maritza, Diccionario básico de química analítica, Instituto politécnico nacional, 1 ed., 1996, México p5.

<sup>3</sup> Algunos tipos de biocidas,  
[http://www.quiminet.com/ar3/ar\\_%25F7%2580%25B3%2540%257C%25B8.htm](http://www.quiminet.com/ar3/ar_%25F7%2580%25B3%2540%257C%25B8.htm), Artículo.  
(Citado 13 de Agosto de 2008).

**Colinesterasa:** Es una enzima en el cuerpo que regula el sistema nervioso.<sup>4</sup>

**Conductividad:** Es una medida de la habilidad que tiene una solución para conducir la corriente eléctrica. La unidad de medición es el siemen/centímetro.

**Desorción:** Es el proceso que consiste en separar una molécula o átomo de una superficie a la que ha sido adherida.

**Elución:** Remoción de una sustancia adsorbida en una columna cromatografico o de intercambio de iones utilizando un solvente.<sup>5</sup>

**Ingrediente activo:** Es la parte biológicamente activa de un plaguicida presente en una formulación que causa la muerte de los organismos, puede ser de origen químico, o biológico.

**Intoxicación:** Son los signos y síntomas resultantes de un toxico.<sup>6</sup>

**Ionización:** Proceso de formación de átomos (moléculas) con carga eléctrica, debido al exceso o falta de electrones respecto a un átomo (molécula) neutro. Este fenómeno se puede producir por choques de electrones energéticos o fotones, así como por el contacto de átomos excitados con una superficie caliente (ionización por contacto).<sup>7</sup>

---

<sup>4</sup> Department of labor and industries. Información para trabajadores agrícolas, <http://www.lni.wa.gov/Safety/Topics/AtoZ/Cholinesterase/files/CHeFactSheet-Spanish.pdf>. Documento, (Citado 13 de agosto de 2008).

<sup>5</sup>DAGMAR HERRERA. Maritza, Diccionario básico de química analítica, Instituto politécnico nacional, 1 ed., 1996, México p60.

<sup>6</sup> Química toxicológica y legal, <http://www.bvsde.paho.org/bvstox/e/matedu/quimica.ppt>. Diapositivas. (Citado 14 de Agosto de 2008).

<sup>7</sup> Plasmatreteat, <http://www.plasmatreteat.es/glosario/i-j.html>. Glosario. (Citado 14 de Agosto de 2008).

**Lixiviación:** Proceso mediante el cual se lava un medio produciendo el desplazamiento de sustancias solubles.

**Tiempo de retención:** Tiempo que transcurre entre la inyección de la muestra y la aparición del pico.<sup>8</sup>

**Toxicidad:** Es la capacidad de una sustancia química de causar daños a los organismos vivos. Esta depende de la cantidad de la sustancia administrada o absorbida y del tiempo expuesto a la misma. La correlación entre la exposición y la incidencia o del grado de severidad (en cantidad o porcentaje) es llamado la correlación dosis-respuesta.

**Tóxico:** Es toda sustancia que al entrar en contacto con un organismo produce, a través de una acción química, un efecto perjudicial.<sup>9</sup>

---

<sup>8</sup> Ibíd. p123.

<sup>9</sup> Química toxicológica y legal, <http://www.bvsde.paho.org/bvstox/e/matedu/quimica.ppt>. Documento. (Citado 14 de Agosto de 2008).

## RESUMEN

La *Determinación De La Característica De Toxicidad Por Lixiviación (TCLP) Del Ingrediente Activo Malatión en un Plaguicida Organofosforado Mediante El Procedimiento De TCLP*, se efectuó como consecuencia de los proyectos que se realizaron en la Universidad de la Salle en cuanto a plaguicidas y su manejo, con el fin identificar el impacto que genera un plaguicida con estas características.

La técnica TCLP fue desarrollada mediante los métodos 1311 y 8141A EPA, para el procedimiento de la técnica TCLP y cromatografía de gases respectivamente, adaptándolos a las condiciones del laboratorio de Ingeniería Ambiental de la Universidad de la Salle.

El plaguicida Malathion 57% EC es un insecticida, cuyo ingrediente activo es Malathion, (S-1,2-bis(etoxicarbonil)etil O,O-dimetil fosforoditioato), el cual fue objeto de este estudio en el cual se realizó un análisis del lixiviado obtenido de este insecticida mediante el test TCLP (toxicity characteristic leaching procedure) generando además una metodología para el manejo e implementación de dicho método.

Para el análisis se realizaron 10 ensayos de laboratorio de los cuales se determinó que la aplicación del plaguicida al suelo sin ninguna dosificación genera un impacto moderado y menos del 50% del plaguicida puede lixiviar.

## **ABSTRACT**

The determination of the toxicity characteristic leaching (TCLP) of the active ingredient in an organophosphate pesticide Malathion by use of the TCLP, was made as a result of projects being conducted at the Salle University in terms of pesticides and its management in order to identify the impact that generates a pesticide with these characteristics.

TCLP technique was developed by using the EPA 1311 and 8141A, for use of the technique and gas chromatography TCLP respectively, adapted to the conditions of the laboratory of Environmental Engineering, University of the Salle.

The pesticide Malathion 57% EC is an insecticide whose active ingredient is Malathion, which was the subject of this study where an analysis of the leachate obtained from this insecticide by TCLP test (toxicity characteristic leaching procedure) generating a methodology for management and implementation of this method.

Data analysis was conducted 10 laboratory tests which determined that the application of the pesticide to the soil without generating a moderate impact strength and less than 50% of the pesticide can leach.



## **INTRODUCCION**

La necesidad de utilizar productos como los plaguicidas que ofrezcan al sector agrícola la manera de controlar sus cultivos, ha generado la utilización de sustancias, que por sus niveles de toxicidad, no solo contribuyen en el deterioro del medio ambiente sino que también se constituyen en un riesgo para la salud humana.

Ante esta problemática, diferentes instituciones han realizado investigaciones para disminuir los efectos generados por dichas sustancias, como es el caso del Instituto Agropecuario, ICA, que apoyó investigaciones sobre plaguicidas realizadas por la Universidad de la Salle, a partir de las cuales surgió el presente trabajo que hace referencia a un análisis de un plaguicida organofosforado cuyo ingrediente activo es el Malathion, mediante la técnica TCLP.

Este trabajo de grado se describe en 6 capítulos en los que inicialmente se hace una descripción acerca de los plaguicidas, su clasificación y algunos efectos en la salud y ambiente causados por su uso inadecuado o constante, además del método 1311 de la EPA para la aplicación del test TCLP, y una descripción de los aspectos mas importantes sobre cromatografía gaseosa, posteriormente se describe la metodología que fue empleada para el estudio del insecticida. Y finalmente se presentan los resultados obtenidos mediante los cuales, además del análisis respectivo, se elaboraron protocolos para la implementación de dichos métodos en compuestos de características físicas similares a las del plaguicida analizado.

## **1. OBJETIVOS**

### **1.1 OBJETIVO GENERAL**

Determinar la característica de toxicidad por lixiviación del ingrediente activo Malathion en el plaguicida organofosforado Malathion 57% EC por medio del test TCLP (Toxicity characteristic for leaching procedure).

### **1.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS**

- Implementar la técnica TCLP con el plaguicida Malathion 57% EC que tiene como ingrediente activo Malathion en el laboratorio de Ingeniería Ambiental de la Universidad de la Salle.
- Emplear la técnica de cromatografía de gases según el método 8141 A, ajustado a las condiciones del laboratorio de Ingeniería Ambiental de la Universidad de la Salle, correspondiente a la identificación de plaguicidas organofosforados para el plaguicida Malathion 57 % EC.
- Diseñar los protocolos de procedimientos para aplicar la técnica TCLP y análisis por cromatografía de gases en plaguicidas organofosforados con el plaguicida Malathion 57% EC.
- Establecer con las características de toxicidad por lixiviación el impacto generado en el recurso y las posibles implicaciones ambientales para generar medidas de prevención.

## **2. ANTECEDENTES**

En el exterior la técnica TCLP a sido desarrollada por parte de diferentes entidades, entre ellas se encuentra la Universidad Estatal de Nueva Jersey, Rutgers que en 1998 empleó la técnica en un estudio sobre las cenizas generadas en los incineradores municipales; en este estudio se estableció que estas cenizas constan de dos partes una denominada voladora y otra ceniza de fondo que contienen compuestos peligrosos que se consideraron con ayuda de la implementación de la técnica.<sup>10</sup>

La Universidad Tecnológica Nacional - Facultad Regional La Plata en Buenos Aires, realizó en el año 2001 un estudio llamado “Experiencia en la utilización de barro contaminados en bases y subbases de pavimentos de hormigón” que buscó la posibilidad de utilizar estos lodos contaminados y estabilizados afirmando que serian menores los costos de utilización en proyectos viales que en el proceso de reducción del residuo, la técnica se empleo para determinar la peligrosidad de lodos contaminados con metales pesados e hidrocarburos tratados biológicamente; se estableció que las concentraciones de metales fue inferior a la norma, por lo tanto, se determinó que estos lodos se pueden utilizar.<sup>11</sup>

También con relación a estudios sobre lodos la Universidad de los Andes de Venezuela, presentó en el año 2007 un estudio titulado “Desarrollo de la

---

<sup>10</sup> Environmental Research Foundation, Nuevo Estudio Muestra que la Ceniza de los Incineradores es más Peligrosa de lo que Pensábamos. <http://www.rachel.org/es/node/5119>. Artículo. (Citado 18 de Agosto de 2008).

<sup>11</sup> Universidad Tecnológica Nacional – Facultad regional La Plata. Experiencia en la utilización de barro contaminados en bases y subbases de pavimentos de hormigón. <http://www.frlp.utn.edu.ar/lemac/Publicaciones/Hasta%202002/Barros%20conta%20-%20XIII%20V%20y%20T.pdf>. Documento. (Citado 18 de Agosto de 2008).

tecnología de inmovilización: estabilización/solidificación de desechos peligrosos en Costa Rica, estudio de caso en lodo de electrodeposición” La técnica TCLP fue empleada para determinar si el lodo se podía disponer en un relleno sanitario, obteniéndose como resultado que los niveles de lixiviación del Níquel están por encima de la norma.<sup>12</sup>

En Colombia el desarrollo del método TCLP ha sido empleado por parte de algunas entidades como las Empresas Públicas de Medellín que junto con la universidad Pontificia Bolivariana y la Escuela de Ingeniería de Antioquia realizaron un estudio para evaluar a escala piloto el efecto del uso de biosólidos provenientes de una planta de tratamiento de aguas residuales en aplicación directa al terreno, realizando entre otros análisis una prueba TCLP para los lodos y determinar su peligrosidad, obteniendo como resultado que no son peligrosos además mediante esta prueba mensualmente se valida su no peligrosidad.

La técnica se empleó también en un estudio realizado por parte del consorcio NAM – VELZEA para la secretaría de ambiente de Bogotá en el año 2000, con el fin de evaluar las alternativas de gestión para los residuos orgánicos en las plazas de mercado de Bogotá; entre otros análisis de laboratorio y la técnica TCLP se estableció que existe una baja presencia de elementos tóxicos.<sup>13</sup>

Por otro lado, la universidad de los Andes ha empleado el test mediante ensayos realizados a lodos con contenido de metales pesados provenientes de

---

<sup>12</sup> Universidad Autónoma del Estado de México. Red de revistas de América Latina y el Caribe, España y Portugal. <http://redalyc.uaemex.mx/redalyc/pdf/933/93320303.pdf>. Documento. (Citado 18 de Agosto de 2008).

<sup>13</sup> Gestión de los residuos orgánicos en las plazas de mercado de Bogotá. <http://www.secretariadeambiente.gov.co/sda/libreria/pdf/residuos/4-Plazas.pdf>. Documento. (Citado 10 septiembre de 2008).

plantas de tratamiento de aguas residuales del sector industrial de la galvanoplastia. La eficiencia del proceso se estudió analizando los resultados de los pruebas de laboratorio TCLP, entre otros. Los resultados de laboratorio fueron analizados obteniendo altos porcentajes de retención de metales.

Dentro de las investigaciones que en la Universidad de la Salle se han desarrollado en cuanto a plaguicidas existen trabajos de grado como, *“Evaluación de Alternativas de Manejo para Eliminación de Plaguicidas Obsoletos Existentes en el ICA Estudio de Caso Mosquera y Villavicencio.”*, por Natalia Guerrero, y *“Formulación de Alternativas Ambientalmente Apropriadas para la Disposición Final de Plaguicidas en Desuso Incautados por el Estado”*, realizada por Juan Helderth Cárdenas; a partir del desarrollo de estas investigaciones se generaron nuevos estudios entre los cuales, además de este trabajo de grado, se encuentra el de *“Determinación de la característica de toxicidad del ingrediente activo “clorpirifos” en el plaguicida organofosforado attamix sb mediante el procedimiento de TCLP”*, por Leslie González y Cesar Meneses, que no registró ningún dato de concentración en muestras liquidas, demostrando que prácticamente no hay lixiviación.

### 3. MARCO TEORICO

#### 3.1 PLAGUICIDA

Cualquier sustancia o mezcla de sustancias destinadas a prevenir, destruir o controlar cualquier plaga o especie no deseada en plantas o animales que causan perjuicio o que interfieren de cualquier forma desde la producción hasta la comercialización de productos agrícolas.<sup>14</sup>

Los plaguicidas pueden obtenerse de distintas fuentes como productos inorgánicos que son compuestos de diferentes elementos, como arsénico, mercurio, cobre, boro, azufre; u orgánicos obtenidos por los derivados de plantas, u orgánicos de síntesis siendo estos últimos los más comunes.

#### 3.2 CLASIFICACIÓN DE LOS PLAGUICIDAS

Los plaguicidas pueden clasificarse desde varios aspectos dependiendo de cual sea necesario tener en cuenta, ya sea por el problema que controlan, su presentación, constitución química, o persistencia, entre otros. (*Tabla N°1. Clasificación general de los Plaguicidas*).

- *Problema que controlan:* Existe un plaguicida específico para cada plaga que sea necesario atacar como los insectos, ácaros, hongos, etc.
- *Presentación:* Determina la facilidad de penetración en el organismo del individuo expuesto.
- *Constitución Química:* Se clasifican en diversos grupos.
- *Peligrosidad:* La Organización mundial de la salud ha determinado una clasificación donde tiene en cuenta aspectos como el ingrediente activo,

---

<sup>14</sup>Vigilancia de las condiciones ambientales en eventos de intoxicaciones, accidentes o emergencias por sustancias químicas – plaguicidas. Documento, [www.dssa.gov.co/download/Guiasplaguicidas.pdf](http://www.dssa.gov.co/download/Guiasplaguicidas.pdf) (Citado 13 de Abril de 2008).

formulación, concentración, vía de exposición y en dosis letal media (DL50) aguda por vía oral o dérmica.

Tabla N°1. Clasificación general de los Plaguicidas

<b>CLASIFICACION DE LOS PLAGUICIDAS</b>	
<b>PROBLEMA QUE CONTROLAN</b>	
Insecticida	Herbicida
Acaricida	Nematicida
Fungicida	Larvicida
<b>PRESENTACION</b>	
Gases o gases licuados	Sólidos
Fumigantes y aerosoles	Líquidos
Polvos	Cebos y tabletas
<b>CONSTITUCION QUIMICA</b>	
Arsenicales	Organofosforados
Carbamatos	Organometálicos
Derivados de cumarina	Piretroides
Derivados de urea	Tiocarbamatos
Dinitrocompuestos	Triazinas
Organoclorados	
<b>PELIGROSIDAD</b>	
Ia: Extremadamente peligroso	Ib: Altamente peligroso
II: Moderadamente peligroso	III: Ligeramente peligroso
V: No implican un riesgo agudo en uso normal.	VI: No tienen categoría por ser obsoletos o discontinuados.

Fuente: Autora

### 3.3 CONTAMINACION POR PLAGUICIDAS

Cada plaguicida después de haber sido aplicado o expuesto al ambiente actúa con una dinámica y un destino propio, de acuerdo a las propiedades mismas

del plaguicida y a los diferentes comportamientos de los ecosistemas con los que tendrá que interactuar.

El movimiento y la dispersión de un plaguicida son las causas de la contaminación ambiental, su dispersión y destino final dependerá de las características del ecosistema y del plaguicida, del tipo de formulación, método de aplicación, y condiciones ambientales.<sup>15</sup>

### **3.3.1 Efectos en el medio ambiente**

Aunque los plaguicidas han sido creados para favorecer la producción agrícola su uso ha generado consecuencias negativas en el entorno en el que estos productos son aplicados o manipulados además de que es posible encontrar residuos de estas sustancias en los productos cosechados, por lo tanto su aplicación inadecuada e intensiva ha llevado a que los plaguicidas pasen de asociados en la conservación a ser una amenaza para la salud y preservación del ambiente, actuando generalmente como biocidas produciendo un desequilibrio ecológico.<sup>16</sup>

Cuando los plaguicidas son utilizados, el suelo recibe una gran cantidad de éstos, que pueden ser arrastrados; parte de estas sustancias químicas pueden incorporarse al aire y viajar grandes distancias; otras son absorbidas por las plantas que serán ingeridas por animales y el hombre. De acuerdo a las características que posea cada plaguicida, se podrá determinar el grado en el que estos productos contaminaran agua, aire y alimentos.<sup>17</sup>

---

<sup>15</sup> Red de acción en plaguicidas y sus alternativas de América Latina (RAP-AL). Artículo, [www.rap-al.org/clasificacion\\_plaguicidas.php](http://www.rap-al.org/clasificacion_plaguicidas.php) (Citado 18 Abril de 2008)

<sup>16</sup> VALLEJO, María del Carmen, Toxicología Ambiental, Fondo nacional universitario; 1997 p. 30

<sup>17</sup> LOPEZ, Lizbeth, Exposición a los plaguicidas organofosforados, Instituto de salud publica; 1993, pg. 18.



### **3.3.1.1 Aire**

La contaminación atmosférica por plaguicidas se presenta principalmente por aspersión, lo cual permite la pulverización en partículas muy pequeñas que permanecen suspendidas en el aire; éstas pueden ser fácilmente arrastradas por las corrientes de viento y por otra parte, la contaminación de aguas superficiales por plaguicidas permite la introducción de estos a la atmósfera, debido a fenómenos de vaporización.

Durante la aspersión de plaguicidas entre 0.1 y 1% del líquido puede convertirse en gotas que se evaporan casi completamente o pueden ser arrastradas por el viento según el tipo de aparato que se emplee. La presión y velocidad del viento, en la evaporación, influye en la circulación del aire y de la superficie de la hoja o la condición del suelo.

Las aspersiones aéreas constituyen uno de los principales motivos de contaminación del aire debido a problemas de ubicación de las pistas de abastecimiento, procedimientos inadecuados para la destrucción de empaques en estos sitios generando así altas concentraciones de plaguicidas en la atmósfera.<sup>18</sup>

### **3.3.1.2 Suelo**

El efecto principal de la contaminación en el suelo se da sobre su diversidad edáfica afectando la productividad de este, existen algunos parámetros de los plaguicidas que influyen en los procesos que tienen lugar en el suelo como la persistencia, movilidad y bioacumulación.

---

<sup>18</sup> CORNARE Y MVDT, lineamientos generales para abordar la problemática del uso y manejo de plaguicidas, ICONTEC, 2005.

#### **a. Persistencia**

La persistencia o degradación de un plaguicida en el ambiente es una característica importante en la determinación de la probabilidad y el grado de exposición de los organismos a la sustancia. El concepto de persistencia está a menudo relacionado con el tiempo de permanencia o residencia de un plaguicida en un compartimiento particular. A mayor tiempo de residencia, mayor es la persistencia de la sustancia.

Con el tiempo casi todos los plaguicidas se descomponen o se degradan como resultado de distintas reacciones químicas y microbiológicas en el suelo. Algunos se descomponen a causa de la acción de la luz solar; estos procesos tienen como resultado la degradación final del compuesto en los compuestos minerales  $\text{CO}_2$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{HCl}$ ,  $\text{SO}_2$ , etc. Cuando se degradan, algunos plaguicidas producen sustancias intermedias (metabolitos) cuya actividad biológica puede tener también repercusiones ambientales.<sup>19</sup>

#### **b. Movilidad**

El transporte o movilidad de los plaguicidas en el suelo se da desde las capas superiores hacia abajo, a través del proceso de lixiviación y la percolación del agua. El potencial de un plaguicida para lixiviar depende de los procesos de adsorción que se da cuando una parte de él se adhiere a las partículas del suelo y otra parte se disuelve y se mezcla con el agua del suelo; y el proceso de desorción en el suelo definidos por las características propias del plaguicida y del tipo de suelo, temperatura y pH.

Los compuestos orgánicos que se disuelven en las aguas subterráneas se desplazan más lentamente que las aguas subterráneas a causa de la adsorción

---

<sup>19</sup> Parámetros de los plaguicidas que influyen en los procesos que tienen lugar en el suelo. Documento, [www.fao.org/docrep/005/x2570s/X2570S08.htm](http://www.fao.org/docrep/005/x2570s/X2570S08.htm) (Citado 23 abril de 2008).

en las partículas de suelo. La adsorción de un plaguicida determinado será mayor en suelos con un alto contenido de materia orgánica. Por consiguiente, se considera que la lixiviación del plaguicida será más lenta en esos suelos que en los suelos con un contenido inferior de materia orgánica.<sup>20</sup>

### **c. Bioacumulación**

El proceso de bioacumulación o bioconcentración es la tendencia de un compuesto a acumularse en los organismos, se define como la cantidad de un plaguicida que un organismo acumula por adsorción y absorción. Es el resultado neto entre los procesos de toma y excreta, los residuos de las sustancias tóxicas en los tejidos aumentan conforme el material pasa a través de dos o más niveles tróficos.<sup>21</sup>

#### **3.3.1.3 Agua**

La presencia de sedimentos en suspensión en el cuerpo de agua, facilita la movilización del contaminante, debido a la capacidad de intercambio superficial entre la partícula suspendida y el mismo, siendo éste el principal vehículo de movilización de los contaminantes químicos en cuerpos de agua. Esta contaminación se da por diferentes vías, entre las más importantes están:

- Arrastre del contaminante en terrenos que han sido sometidos a la acción de los plaguicidas, ya sea por la acción de las aguas lluvias, o por la utilización de la misma agua de riego de los cultivos.
- La fumigación aérea realizada cerca de los cursos de agua.

---

<sup>20</sup> Ibid.

<sup>21</sup> Parámetros de los plaguicidas que influyen en los procesos que tienen lugar en el suelo. Documento, [www.fao.org/docrep/005/x2570s/X2570S08.htm](http://www.fao.org/docrep/005/x2570s/X2570S08.htm) (Citado 23 abril de 2008).

- La precipitación de aguas lluvias que lavan las partículas de plaguicidas suspendidas en la vegetación.
- Los derrames accidentales que ocurren circunstancialmente.
- La utilización de las corrientes de agua para la limpieza y lavado de materiales sobrantes.

El grado y extensión en que un plaguicida puede infiltrarse a través del suelo hacia las aguas subterráneas, depende en gran parte de factores climáticos externos, como son la temperatura, el régimen de lluvias y el de vientos. La lluvia puede actuar eliminando el plaguicida del lugar donde fue aplicado en base a fenómenos de escorrentía superficial; el transporte de plaguicidas debido a la escorrentía superficial es función del tiempo que puede transcurrir entre su aplicación y precipitación en forma de lluvia, también depende de la naturaleza y persistencia del plaguicida, las características hidrológicas, tipo de suelo y vegetación de la zona, así como del método y forma de aplicación del compuesto.<sup>22</sup> En términos generales, se puede suponer que los derrames de plaguicidas que se han infiltrado en el suelo acabarán por llegar a las aguas subterráneas.

### **3.4 PLAGUICIDAS EN LA SALUD**

Las condiciones ambientales y los fenómenos meteorológicos permiten que el transporte de los plaguicidas se de en forma imprecisa a sitios que no son el objetivo, lo cual puede generar efectos negativos en los individuos que están tanto adentro como afuera de los procesos de producción agrícola. Las aplicaciones aéreas, la irrigación y ciertas condiciones de clima, pueden

---

<sup>22</sup> Instituto tecnológico geominero de España, Dirección de aguas subterráneas y geotecnia, Las aguas subterráneas y los plaguicidas, 1988. p.53.

adicionar movimientos o derivas de los plaguicidas en la distancia, influyendo en su severidad.

### **3.4.1 Toxicidad y efectos**

Los efectos tóxicos de los plaguicidas dependen básicamente del tipo de sustancia, de la vía de penetración al organismo (oral, dérmica o inhalatoria), de la intensidad de la dosis y de la duración de la exposición. Afectando directamente a los organismos vivos causando la muerte, o afectando el crecimiento, la sobrevivencia por factores reproductivos u otras funciones según su toxicidad.

Ya que los plaguicidas son productos tóxicos no selectivos, atacan tanto a las especies nocivas como a las benéficas, a especies superiores y al hombre, la exposición humana a plaguicidas se lleva acabo a diferentes niveles de intensidad, dependiendo de la intensidad y duración de la exposición a los plaguicidas existen dos grupos, el de alto riesgo (personas que tienen un contacto directo y continuo con estas sustancias) y el de bajo riesgo o exposición moderada (población en general).<sup>23</sup> Los efectos en el corto plazo o agudos en la salud humana incluyen enfermedades e incluso muertes por exposición accidental o fortuita, mientras que los efectos crónicos o de largo plazo son mutagénicos, oncogénicos (tumores), y neurológicos.<sup>24</sup>

La vía dérmica es responsable de un alto porcentaje de intoxicaciones ya que cuando el ingrediente activo se disuelve en solvente orgánico, se facilita la absorción del producto a través de la piel. Su biotransformación se hace mediante enzimas oxidasas, hidrolasas y transferasas, principalmente

---

<sup>23</sup> LOPEZ. Lizbeth, Exposición a los plaguicidas organofosforados, Instituto de salud publica; 1993, pg. 21

<sup>24</sup> CORNARE Y MVDI, lineamientos generales para abordar la problemática del uso y manejo de plaguicidas, ICONTEC, 2005.

hepáticas. La eliminación tienen lugar por la orina y en menor cantidad por heces y aire exhalado.

Además en los alimentos la contaminación de los productos de cosecha debida a plaguicidas puede ocurrir por una de las siguientes vías: aplicación directa durante el crecimiento, transporte o almacenamiento; permanencia de los plaguicidas en el suelo y posterior translocación en la cosecha; contaminación del agua que se usa para el riego o para consumo del hombre y los animales; y finalmente por la translocación dentro de los animales.

A través de la cadena alimenticia y por el proceso de biomagnificación, el organismo humano acumula estas sustancias produciéndose una intoxicación crónica que puede manifestarse en desórdenes orgánicos no identificables con la exposición a plaguicidas.<sup>25</sup>

#### **3.4.1.1 Parámetros Toxicológicos**

Los parámetros toxicológicos utilizados para determinar el grado de toxicidad de una sustancia son.

- Dosis Letal Media (DL50). Es la cantidad de plaguicida expresada en mg plaguicida/kg peso corporal que causa la muerte a la mitad de los individuos ensayados.
- Concentración Letal Media (CL50). Se usa para productos que puedan encontrarse en aire o agua. Es la concentración de plaguicida en el aire o en agua que causa la muerte a la mitad de los individuos ensayados. Se expresa en mg plaguicida/ L de fluido (aire, agua)

---

<sup>25</sup> CORNARE Y MVDT, op. Cit, p 18.

- Dosis Efectiva Media (DE50). Se refiere a la dosis de plaguicida que causa la inactivación de la mitad de los individuos ensayados. Se expresa en mg plaguicida/kg peso corporal.
- Concentración Efectiva Media (CE50). Es la concentración de plaguicida en el aire o en agua que causa la muerte a la mitad de los individuos. Se expresa en mg plaguicida/L.

#### **3.4.1.2 Toxicidad de los Organofosforados**

El primer efecto asociado con la toxicidad de los organofosforados es la inhibición de la acetilcolinesterasa; en el sistema nervioso existe una proteína que tiene actividad enzimática esteárica; ésta, cuando es fosforilada por el plaguicida se convierte en lo que se denomina estearasa neurotóxica, responsable de la neuropatía retardada. Son biodegradables y no se acumulan en el organismo, presentan problemas especiales debido a que cuando hay combinación entre algunos organofosforados, se producen diversos efectos, entre otros, sinergia, potenciación e inhibición de la detoxificación. Por ejemplo el Malatión. Estudios realizados en enzimas metabolizantes de xenobióticos en hígado y cerebro de ratas, hallaron que el endosulfan también puede aumentar la toxicidad del Malatión al inhibir la acción de enzimas desintoxicantes.<sup>26</sup>

Los efectos tóxicos corresponden a la estimulación de los receptores de la acetilcolina (muscarínico y nicotínicos) en los distintos órganos, por ejemplo la estimulación de los receptores muscarínicos del sistema nervioso autónomo parasimpático en los ojos produce miosis y visión borrosa; en el tracto gastrointestinal provoca náuseas, vómitos, diarrea e incontinencia; en las glándulas exocrinas causa salivación, lagrimeo y sudor; en el sistema respiratorio estimula la secreción bronquial excesiva y provoca edema,

---

<sup>26</sup> Red de acción en plaguicidas y sus alternativas de América Latina (RAP-AL). Artículo, [www.rap-al.org/clasificacion\\_plaguicidas.php](http://www.rap-al.org/clasificacion_plaguicidas.php) (Citado 18 Abril de 2008).

broncoespasmos, bronco constricción, tos, disnea; los principales efectos sobre el sistema cardiovascular son la braquicardia y el aumento en la tensión sanguínea; la estimulación de la vejiga urinaria provoca incontinencia.

La acetilcolina estimula los receptores nicotínicos en las fibras nerviosas motoras que alimentan los músculos, produciendo fasciculación, calambres, debilidad muscular generalizada en músculos periféricos y respiratorios, parálisis, temblores y ataxia.

Estos síntomas entre otros constituyen el cuadro clásico de intoxicación aguda y también de carácter persistentes, los primeros suelen desaparecer al cabo de días o semanas de la exposición, y los que permanecen meses o años, con síntomas neuropsicológicos.<sup>27</sup>

### 3.5 INSECTICIDAS ORGANOFOFORADOS

Existen fundamentalmente cuatro clases importantes de insecticidas, dentro de esta clasificación se encuentran los insecticidas organofosforados que se pueden considerar formalmente como derivados del ácido fosfórico ( $H_3PO_4$ ), siendo en gran parte ésteres; son compuestos solubles en agua y fácilmente hidrolizables, se utilizan a menudo para atacar insectos adultos, parásitos de plantas y animales.<sup>28</sup>

Los derivados fosfóricos presentan una similitud en su mecanismo de acción ejercida sobre la acetilcolinesterasa; La acetilcolina (*Figura N°1. Fórmula química de la acetilcolina*) es un mediador para que se transmita el impulso nervioso y la acetilcolinesterasa es una enzima cuya función es hidrolizar a la

---

<sup>27</sup> MORENO, María Dolores, Toxicología ambiental, Evaluación de riesgo para la salud humana, Mc GRAW HILL; 2003, p.290-291.

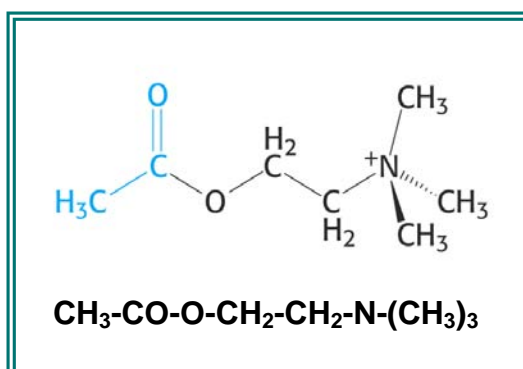
<sup>28</sup> PRAMAURO, Edmundo, Los pesticidas y el medio ambiente, Univesitat de valència; 1990, pg. 50



acetilcolina y evita su acumulación ya que esta se constituye en un tóxico cuando sobrepasa el nivel tolerado.

Los compuestos organofosforados compiten con la acetilcolina por la acetilcolinesterasa de esta forma, al unirse estos con la enzima detienen la hidrólisis de la acetilcolina, produciendo su acumulación excesiva y es por eso que los síntomas resultantes son principalmente estimulados por la acetilcolina. En general esta acción inhibidora de la colinesterasa no se efectúa directamente por el derivado fosfórico en su inicial estado, sino a través de transformaciones o metabolitos del mismo. Los caminos utilizados pueden ser variados, pero en todos se forman compuestos de oxidación mas tóxicos que el producto original.

Figura N°1. Formula Química de la Acetilcolina



Fuente:

<http://www.javeriana.edu.co/Facultades/Ciencias/neurobioquimica/libros/neurobioquimica/acetilcolina.htm>

### 3.5.1 Malathion

El Malathion 57% EC (Figura N° 2. Presentación plaguicida Malathion 57% EC) es un plaguicida insecticida cuyo ingrediente activo es Malathion, (S-1,2-bis(etoxycarbonil)etil O,O-dimetil fosforoditioato) corresponde a la familia de los organofosforados (Anexo N°1. Hoja de seguridad), y tiene las siguientes características.

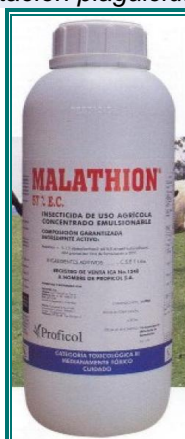
Tabla N°2. Características del plaguicida Malathion 57% EC.

CARACTERISITICAS DE MALATHION 57% EC	
Formula Molecular	C10 H19 O6 Ps2
Peso Molecular	330.36
Apariencia Y Olor	Líquido Color Ámbar Claro, Con Olor a Xilol.
Densidad 20oc	1,07 gr/ml.
% Volátil (Por Volumen)	30
Solubilidad En H <sub>2</sub> O	145 Ppm A Temperatura Ambiente
Punto De Ebullición	Alrededor De 156 - 157 Oc.
Presión De Vapor	6,72 Mm Hg 21oc.
Densidad De Vapor	3,7 (Aire = 1)
Ph	Neutro, Con Tendencia A Acidificarse

Fuente: Autora

Su solubilidad relativa en agua y lípidos es muy variable, así como su adsorción y movilidad en el subsuelo. Su vía de acción es de contacto y actúa inhibiendo la colinesterasa de los insectos; se utiliza en cultivos de algodón, arroz, avena, cebada, trigo, cebolla, crucíferas (col, repollo y coliflor), curuba, frijol, maíz, papa, pastos, piña, sorgo, tabaco, tomate, aguacate, cítricos, maracuyá, cafeto, papayo, vid y frutales.<sup>29</sup>

Figura N° 2. Presentación plaguicida Malathion 57% EC.



Fuente: Proficol S.A.2007

<sup>29</sup>

Proficol, [www.proficol.com.co/productos/pdf/INSECTICIDAS/MALATHION%2057.pdf](http://www.proficol.com.co/productos/pdf/INSECTICIDAS/MALATHION%2057.pdf).

Articulo. (Citado 14 junio de 2008)

Su ingrediente activo (Malathion = S-1, 2-Di (Etoxycarbonil) Etil 0,0- Dimetil Fósforoditioato) es originado por las diferentes modificaciones que se obtienen de las transformaciones de la formula original de derivados del ácido fosfórico; este se sintetiza por la adición de ácido fosforoditioico al malatodietilo.<sup>30</sup>

### **3.6 METODO Y PROCEDIMIENTO PARA DETERMINAR LA CARACTERISTICA DE TOXICIDAD POR LIXIVIACION (TCLP)**

El método Toxicity Characteristic Leaching Procedure Conocido como test TCLP, es el test de lixiviación más conocido, desarrollado a fines de la década del 80 en los Estados Unidos por la EPA (Environmental Protection Agency) para cuantificar la extractabilidad de compuestos tóxicos como metales, compuestos orgánicos volátiles, semi-volátiles y pesticidas bajo un conjunto de condiciones de laboratorio.

Es importante precisar que este método ha sido diseñado para determinar la característica de toxicidad por lixiviación de un compuesto tóxico sea este un residuo líquido, sólido o una mezcla de estas fases, simulando las condiciones de un vertido, a partir de un análisis practicado a una muestra del lixiviado o extracto del mismo, determinando el potencial de peligrosidad del residuo si el lixiviado del test contiene algún constituyente tóxico en concentraciones que igualen o superen la norma; en definitiva el procedimiento consiste en determinar la movilidad en el residuo de determinados constituyentes tóxicos con ayuda de algunas técnicas de laboratorio como la cromatografía de gases que permite hacer un análisis cuantitativo del toxico.<sup>31</sup>

El desarrollo del método comprende una fase inicial en la que se determina con las características de la muestra el procedimiento que se debe realizar, inicialmente se separan las fases líquida y sólida presentes en la muestra con

---

<sup>30</sup> KREMLIN, plaguicidas modernos y su acción bioquímica, Noriega editores 1990, pg.103

<sup>31</sup> EPA, Environmental Protection Agency, Método 1311, pg. 1-2

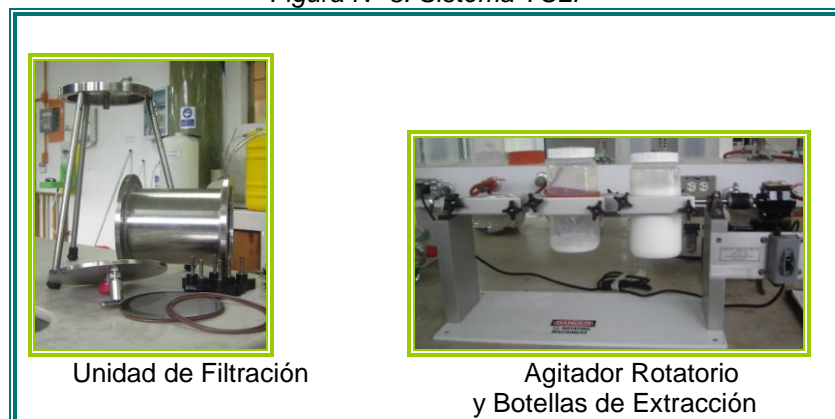
el fin de determinar el porcentaje de sólidos presentes en la muestra, además se lleva la muestra a un periodo de agitación de 18 horas con la solución lixiviante que se determina según lo indicado por el método para posteriormente preparar el extracto obtenido para el análisis cromatográfico.

La preparación del extracto se realiza sometiendo la muestra a un proceso de extracción que se hace teniendo en cuenta los métodos de extracción de la EPA para compuestos semivolátiles y no volátiles, como los métodos 3510, extracción líquido – líquido con embudo de separación y 3520, extracción continua líquido – líquido para muestras líquidas; y métodos 3540, extracción con soxhlet y 3541, extracción automática con soxhlet para muestras sólidas para ser analizado mediante una técnica de laboratorio como la cromatografía de gases.

### 3.6.1 SISTEMA TCLP

Existen diferentes modelos y referencias de equipos con los cuales se realizan los ensayos del método TCLP; el equipo utilizado en el desarrollo de este procedimiento consta principalmente de una unidad de filtración y otra de agitación (*Figura N°3. Sistema TCLP*) y posee las especificaciones descritas en la tabla N° 3. Especificaciones del sistema TCLP.

*Figura N° 3. Sistema TCLP*



*Fuente: Autora*

Tabla N° 3. Especificaciones del Sistema TCLP.

ESPECIFICACIONES DEL EQUIPO		
UNIDAD	FUNCION	REFERENCIA
- MODELO		3750 LHWF
- UNIDAD DE FILTRACION	Permite la separación de las fases que componen la muestra a analizar.	3750-LHWF 2.2 Litro
Filtros		HWF-5044-0002, 142 mm, Fibra de Vidrio, poros de 0.7um
- AGITADOR ROTATORIO	Permite la agitación de las muestras a 30 rpm	3740-BRE
Botella del extracto	Contiene la muestra.	3740-WGB, Vaso de Boca Ancha
Cesta de de acero para las botellas	Asegura las botellas al agitador rotatorio.	3740-PWC de WGB
Aro de caucho para asegurar las botellas	Asegura las botellas del extracto a la cesta de acero.	3740-RC

Fuente: Envairoment Sistem Proveedor

### 3.7 CROMATOGRAFIA DE GASES

La cromatografía es una técnica de análisis químico utilizada para la separación de una muestra entre dos fases. Existen dos tipos de cromatografía de gases: la cromatografía gas-sólido y la cromatografía gas-líquido, siendo esta última la que se utiliza más ampliamente, y que se conoce simplemente como cromatografía de gases (*Figura N°4. Cromatógrafo de gases*); en la cromatografía gas-líquido hay una fase estacionaria que puede ser un sólido o una delgada película líquida. La otra fase consiste en un gas o líquido que percola sobre la fase estacionaria (fase móvil) y alrededor de la misma.<sup>32</sup>

<sup>32</sup> MCNAIR, Harold, Cromatografía de gases, programa regional de desarrollo científico y tecnológico, secretaria nal de la org. de los estados americanos; 1981, pg. 3.

Figura N°4. Cromatógrafo de Gases



Fuente: Autora

### 3.7.1 Componentes del cromatografo de gases

#### a. Gas Portador

La función de este gas es transportar los componentes volátiles de la muestra a través de la columna donde se separan los componentes<sup>33</sup>, el gas fluye a través de la columna a una velocidad específica, medida como una velocidad lineal (cm/sec) o como flujo (ml/min); debe ser un gas inerte, para prevenir su reacción con el analito o la columna. Generalmente se emplean gases como el helio, argón, nitrógeno, hidrógeno o dióxido de carbono, la elección de este gas en ocasiones depende del tipo de detector empleado, por ejemplo, el nitrógeno, helio y hidrógeno suele utilizarse con los detectores de ionización de llama (FID). El argón con el detector de captura electrónica (ECD). El helio e hidrógeno con el detector de conductividad térmica (TCD), por su elevada conductividad; si bien el hidrógeno es un fuerte reductor, lo que puede limitar su uso.<sup>34</sup>

---

<sup>33</sup> *Ibíd.*, p. 22

<sup>34</sup> Cromatografía de gases, [www.relaq.mx/RLQ/tutoriales/cromatografia/Gas.htm](http://www.relaq.mx/RLQ/tutoriales/cromatografia/Gas.htm). Artículo. (Citado junio 23 de 2008)

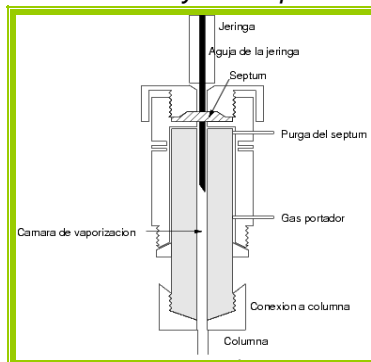
## b. Sistema de inyección de muestra

El método más utilizado es emplear una microjeringa para introducir el analito, la eficacia de las columnas obliga a que la muestra sea de un tamaño adecuado y que se aplique instantáneamente; inyecciones lentas o muestras de volumen excesivo producen ensanchamientos de las bandas y disminuye la eficacia; además la entrada de la muestra debe permitir la introducción de una amplia variedad de las mismas, y su inyección debe ser cuantitativa en la corriente del gas transportador (*Figura N°5. Sistema de Inyección para cromatografía*).

En las columnas de relleno, la cantidad de muestra líquida máxima es de 10  $\mu\text{l}$ ; en columnas capilares se utilizan muestras mucho más pequeñas, del orden de  $10^{-3}$   $\mu\text{l}$ . El inyector para columnas capilares suele disponer de un sistema de división de flujo (split/splitless) para que a la columna solamente pase una pequeña fracción de la muestra, desechando el resto. Las muestras gaseosas se inyectan mediante una válvula automática y en mayor cantidad.

En auto inyectores se especifica tanto la temperatura para vaporizar la muestra y el solvente, como la presión para el inyector; hay control de pre-purga, purga y post purga reduciendo la posibilidad de contaminación de los analitos de las muestras entre las corridas.

*Figura N°5. Sistema de Inyección para cromatografía.*



Fuente: [es.wikipedia.org/wiki/Cromatograf%C3%ADa\\_de\\_gases](https://es.wikipedia.org/wiki/Cromatograf%C3%ADa_de_gases) (Citado Agosto 2008)

### **c. Columnas**

En las columnas se efectúa la separación de las muestras, siendo este el objetivo primario de la cromatografía de gases<sup>35</sup>.

- **Tipos De Columnas**

Existen dos tipos de columnas, principalmente, de relleno y capilares o semicapilares.

- **Columnas de relleno**

Suelen ser de cobre, acero inoxidable, aluminio, vidrio y teflón; con un diámetro interior entre 2 y 4 mm y una longitud entre 2 y 3 m. Suelen emplearse para muestras poco complejas, máximo 10 componentes.

La columna está rellena de un material sólido (soporte), finamente dividido y homogéneo; recubierto, por una capa de 0,05 - 1  $\mu\text{m}$  de espesor, de fase estacionaria líquida, está configurada en forma helicoidal, con un diámetro de unos 15 cm, para poder ser instalada en el horno termostatzado.

- **Columnas Capilares**

Suelen construirse con sílice fundida que le dan gran resistencia física y flexibilidad, tienen un diámetro interior inferior a 1 mm (320-250  $\mu\text{m}$ ) y una longitud de 5 a 50 m. (*Figura N°6. Columna capilar*). Otro tipo de columnas capilares son con soporte recubierto, en la que la superficie interna del capilar esta recubierta de una capa de material de soporte (tierras de diatomeas) de 30  $\mu\text{m}$ , lo que permiten una mayor cantidad de fase estacionaria y por tanto de muestra.

---

<sup>35</sup> MCNAIR, Harold, Cromatografía de gases, programa regional de desarrollo científico y tecnológico, secretaria nal de la org. de los estados americanos; 1981, pg. 35.



Las columnas semicapilares tienen un diámetro interior de 530  $\mu\text{m}$  que admiten cantidades de muestra similares a las columnas de relleno, y proporcionan mayor eficacia que éstas.

*Figura N°6. Columna Capilar*



Fuente: [www.unileon.es/index.php?elementID=1028](http://www.unileon.es/index.php?elementID=1028) (Citado Agosto 2008)

- **Temperatura de la columna**

Es una de las variables importantes en el desarrollo cromatográfico; la temperatura óptima es función de los puntos de ebullición de los componentes de la muestra y del grado de separación deseado, en muestras de parecidos puntos de ebullición la temperatura óptima es ligeramente superior al punto de ebullición medio de los componentes de la muestra. En el caso de muestras complejas, en la que los puntos de ebullición de los distintos componentes son muy diferentes, se recomienda emplear una programación de temperatura, aumentando ésta continuamente a medida que avanza la separación, el aumento de la temperatura reduce los tiempos de retención.

- d. **Detectores**

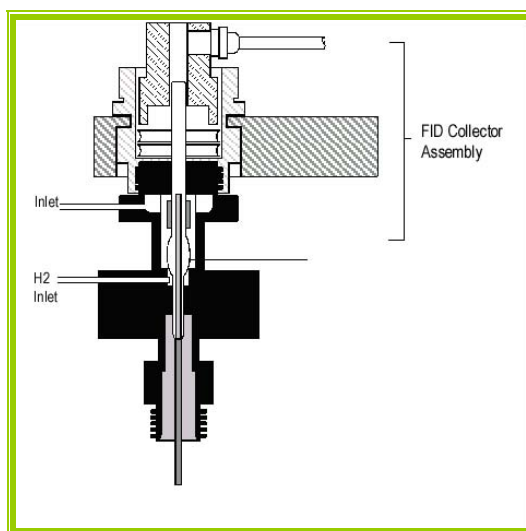
Los detectores son dispositivos que monitorean los diferentes componentes presentes en las muestras. Esto es posible a través de mediciones de ciertas propiedades físicas o químicas de los componentes que son eluidos<sup>36</sup>.

Los detectores miden la concentración de cada uno de los componentes de la muestra, funciona comparando una propiedad física entre el gas portador puro y el mismo gas portador llevando cada uno de los componentes que previamente se han separado en la columna, esta acción se traduce en una señal tipo eléctrica proporcional a dicha concentración.

- **Clases de detectores:**

- **Ionización de llama (FID)**, es uno de los más sensibles para compuestos orgánicos, este requiere hasta 4 gases (gas portador, aire, hidrogeno y a veces gas de make-up para aumentar la sensibilidad en columnas capilares (*Figura N° 7. Detector FID*).

*Figura N°7. Detector FID*



Fuente: [www.clu-in.org/char/technologies/fid.htm](http://www.clu-in.org/char/technologies/fid.htm)

<sup>36</sup> Manual de instrucciones Chorm- card s/w para el Trace de ThermoQuest Italia S.p.A., Abril 2001, p.178.

- **De captura de electrones (ECD)**, detecta compuestos orgánicos con una alta afinidad por electrones (o electronegatividad). A medida que los compuestos orgánicos con alta afinidad de electrones, son eluidos de la columna capturan los electrones producidos en la ionización secundaria reduciendo ésta corriente en el colector.
- **De Nitrógeno/Fósforo (NPD)**, Es específico para la detección de los compuestos que contienen Nitrógeno y/o Fósforo en sus moléculas. La fuente NPD consiste en una lámina cerámica empuñada de un metal alcalino.
- **Fotométrico de Llama (FPD)**, El detector FPD está basado en la medición de las radiaciones emitidas por especies moleculares excitadas durante la transición al estado estable.
- **Fotoionización (PID)**, El detector PID se usa principalmente para determinar contaminantes aromáticos en aplicaciones del ambiente como también en el análisis de hidrocarburos aromáticos policíclicos.
- **Conductividad Térmica**, Por su simplicidad es el detector preferido cuando la concentración del analito es suficientemente alta; requiere solo un tipo de gas, como el helio (gas portador), consiste en un bloque de acero inoxidable que contiene dos filamentos los cuales tienen la misma resistencia eléctrica.

- **Características de un detector**

En un detector se deben tener en cuenta principalmente las siguientes características:

*Sensibilidad:* determina la efectividad del detector, indica la cantidad de señal generada para determinada concentración de una muestra y poderla convertir en una señal eléctrica medible.

*Ruido:* determinado por las propiedades eléctricas, temperatura o sensibilidad al caudal. Es cuantificado por el promedio de la amplitud pico-pico de la señal, el significado de conocer el nivel de ruido de un detector es un factor determinante en la determinación de la cantidad mínima detectable y el límite inferior del rango lineal.

*Respuesta universal y selectiva:* la respuesta universal genera respuesta para todos los componentes de la muestra; la respuesta selectiva significa que el detector solo responde a determinados compuestos.<sup>37</sup>

*Linealidad:* Rango de masa ó concentración de muestra sobre el cual el detector mantiene una sensibilidad constante sin una desviación arbitraria. La linealidad del detector es el que indica la concentración para la cual el detector es confiable. Hay dos límites en la curva de linealidad, el límite de concentración inferior, que es dado por el límite de detección y el límite Superior, definido por un porcentaje de desviación arbitrario de la curva de linealidad, normalmente se toma un 5% de desviación.

*Límite de Detección.* Está definido como la mínima cantidad de sustancia que puede producir una señal que sea el doble del nivel de ruido.

- **Funcionamiento del cromatógrafo**

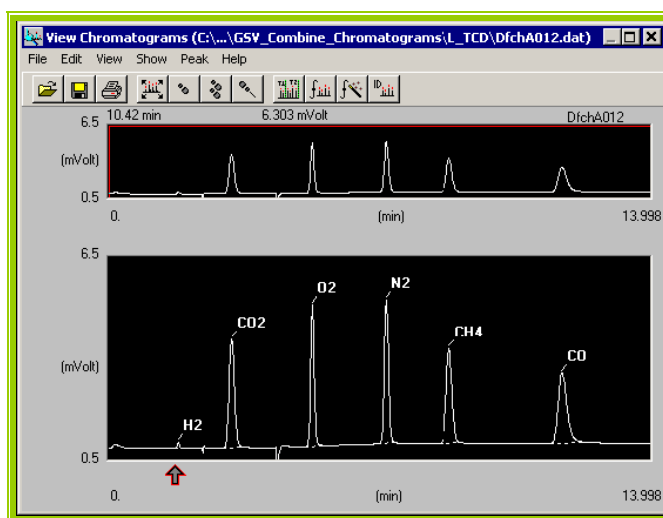
El gas portador inerte fluye continuamente a través de la cámara de inyección (inyector), de la columna y del detector. El caudal del gas portador se controla

---

<sup>37</sup> MCNAIR, Harold, Cromatografía de gases, programa regional de desarrollo científico y tecnológico, secretaria nacional de la org. de los estados americanos; 1981, pg. 41.

para obtener tiempos de retención reproducibles y disminuir al mínimo la deriva y los ruidos del detector. La muestra se inyecta en la cámara de inyección calentada, donde se vaporiza y arrastra hacia la columna. Sobre el soporte sólido de la columna se distribuye una película delgada de un líquido de alto punto de ebullición (la fase estacionaria). La muestra se reparte entre el gas portador y la fase estacionaria y se separa en cada uno de sus componentes. Los componentes de la muestra que tengan mayor solubilidad en la fase estacionaria se desplazan con más lentitud; después de la columna el gas portador y la muestra pasan a través del detector y se obtiene la señal en un cromatograma (*Figura N°8 Cromatograma*).

*Figura N°8. Cromatograma*



*Fuente: Manual de instrucciones Chorm- card, Abril 2001.*

Las ventajas de la cromatografía de gases son:

- Alta Resolución, permite la separación selectiva debido a solubilidades diferentes, aun cuando los puntos de ebullición estén muy próximos.
- Velocidad, permite lograr rápidamente buenos datos analíticos.

- Sensibilidad, es un método preferido para el análisis de trazas, particularmente de plaguicidas, contaminantes orgánicos del aire y agua. Además de la pequeñez de la muestra requerida.
- Sencillez y resultados cuantitativos, tanto las técnicas como el instrumental son relativamente sencillos de comprender. Además se puede obtener exactitud en una amplia gama de concentraciones de la muestra.<sup>38</sup>

### **3.8 VALIDACION DEL METODO INSTRUMENTAL PARA LA DETERMINACIÓN DE MALATIÓN MEDIANTE CROMATOGRAFIA DE GASES**

*La validación del método instrumental para la determinación de malatión mediante cromatografía de gases de alta resolución con detección por ionización de llama, se realizó para el laboratorio de Ingeniería Ambiental de la Universidad de la Salle, este permite confirmar que los resultados producidos por una técnica analítica determinada en el análisis de productos específicos son confiables.*

El desarrollo del método cromatográfico para determinación y análisis de malatión se realizó en un equipo de cromatografía de gases Trace GC Ultra, marca Thermo finnigan con detector de ionización de llama (GC-FID). Este equipo tiene adaptado un autoinyector AI 3000 marca Thermo con una jeringa de inyección marca Hamilton de 10 µl de capacidad. La columna utilizada para la separación cromatográfica fue una columna capilar para propósitos generales marca Restek y codificada como Rtx - 5 con una fase de 5% difenil – 95% dimetilpolisiloxano de 30 m de longitud, 0.32 mm de diámetro interno y 0.50 µm de diámetro de fase, esta columna es estable hasta una temperatura de 340 °C.<sup>39</sup>

---

<sup>38</sup> *Ibíd.*, p. 43.

<sup>39</sup> Acevedo, Baudilio, Desarrollo y validación de un método instrumental para la determinación de clorpirifos y malatión mediante cromatografía de gases de alta resolución con detección por ionización de llama. 2008, pg. 2.

Para determinar las condiciones de operación del equipo de cromatografía de gases para la separación y cuantificación de los plaguicidas basados en los parámetros como el factor de capacidad, selectividad y resolución, se realizaron a partir de una solución de un patrón Mix pesticidas marca Restek, una mezcla de 15 plaguicidas organofosforados con una concentración de 200 mg / ml de cada uno de los compuestos presentes, en la que esta incluido el malatión, bajo estas condiciones se realizaron 3 repeticiones del análisis de la mezcla y se determinó la repetibilidad de las señales producidas por los diferentes plaguicidas en la solución y sus tiempos de retención definiendo para cada caso tiempo de inicio y final de la elución de cada pico cromatográfico.<sup>40</sup>

- **Identificación del ingrediente activo Malathion**

La identificación se realizó a partir del plaguicida comercial Malathion 57%EC, cuyo ingrediente activo es Malatión, como sigue.

- Se realizó un proceso de extracción líquido-líquido con solvente orgánico (acetona).
- Se realizaron 3 repeticiones del análisis de las soluciones preparadas y se determinó la repetibilidad de la señal producida por el malatión y el tiempo de retención del pico cromatográfico (26,98 – 27,01) correspondiente a este compuesto.<sup>41</sup>
- Se determinaron concentraciones de 200, 150, 125, 100 y 75 mg/l, para la curva de calibración a partir de la mezcla estándar de 200 mg/l de plaguicidas organofosforados.

---

<sup>40</sup> Ibíd. p. 4.

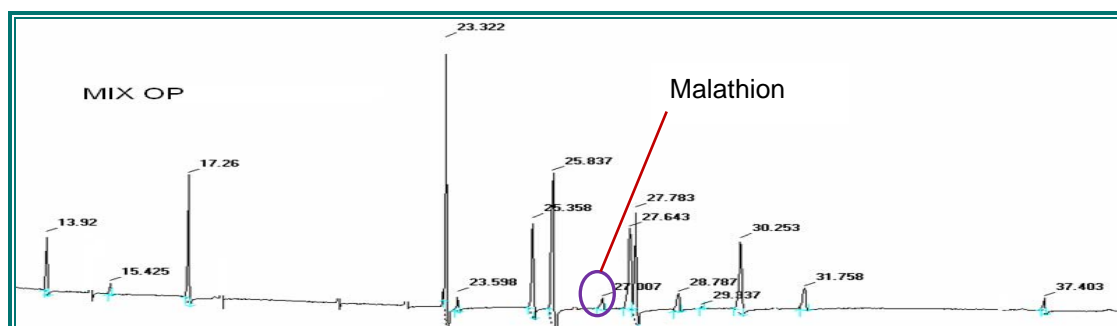
<sup>41</sup> Acevedo, Baudilio, Desarrollo y validación de un método instrumental para la determinación de clorpirifos y malatión mediante cromatografía de gases de alta resolución con detección por ionización de llama. 2008, pg. 6.

- Se inyectaron en el cromatógrafo de gases 8 replicas de cada concentración.

Las condiciones cromatográficas determinadas para correr las muestras se describen en la metodología, estas condiciones se establecieron tras pruebas de ensayo que se realizaron en la validación del método del cual se obtuvo un cromatograma con 15 picos como respuesta a los compuestos presentes en la mezcla.

En la Figura N° 9 se observa el pico del malatión como respuesta a su detección en un tiempo de 26.98 min y de 27.01 min.

Figura N°9. Cromatograma de la mezcla estándar



Fuente: Desarrollo y validación de un método instrumental para la determinación de clorpirifos y malatión mediante cromatografía de gases de alta resolución con detección por ionización de llama.



## 4 MARCO NORMATIVO

Las diversas normas existentes en la legislación tanto internacional como nacional que en cuanto a plaguicidas se refiere, tiene como objetivo primordial proteger la salud de las personas y conservar el medio ambiente mediante una serie de condiciones y medidas para el manejo de estas sustancias en el país.

A continuación se presenta una tabla con la normatividad internacional (*Tabla N°4. Normatividad Internacional*) y normatividad nacional (*Tabla N°5. Normatividad Nacional*), donde se describe en forma general El objetivo de la norma.

Tabla N°4. Normatividad Internacional

N O R M A T I V I D A  I N T E R N A C I O N A L	<b>CONVENIO DE BASILEA</b>
	El Convenio tiene como objetivo principal controlar el movimiento transfronterizo de desechos peligrosos para proteger la salud humana y el medio ambiente, y en especial proteger a los países que no cuentan con la capacidad técnica para el manejo de desechos peligrosos.
	<b>CONVENIO DE RÓTTERDAM</b>
	Su objetivo es promover la responsabilidad compartida y los esfuerzos conjuntos en el comercio internacional de productos químicos peligrosos a fin de proteger la salud y el ambiente; contribuir a su racional utilización, estableciendo un proceso nacional de adopción de decisiones sobre su importación y exportación.
	<b>CÓDIGO INTERNACIONAL DE CONDUCTA PARA LA UTILIZACIÓN Y DISTRIBUCIÓN DE PLAGUICIDAS</b>
	Código de conducta voluntario encaminado a conseguir una mayor seguridad alimentaria y, al mismo tiempo, proteger la salud humana y el medio ambiente”. Además tiene un enfoque a un manejo racional de los plaguicidas con el apoyo al desarrollo de la agricultura sostenible mediante la reducción de riesgos y el uso eficaz de los plaguicidas y la aplicación de estrategias de MIP.
	<b>RESOLUCIÓN 630 DE 2002</b>
	Manual técnico andino para el registro y control de plaguicidas químicos de uso agrícola.

Fuente: legislación

Tabla N°5. Normatividad Nacional

N O R M A T I V I D A  N A C I O N A L	<b>LEY 9 DE 1979</b> Código Sanitario Nacional, Establece normas generales para condiciones sanitarias adecuadas y las medidas para el control de los descargos de residuos; incluye normas generales sobre la producción, formulación, almacenamiento, distribución, movilización y aplicación aérea de los plaguicidas.
	<b>LEY 430 DE 1998</b> Tiene como objeto regular todo lo relacionado con la prohibición de introducir desechos peligrosos al territorio nacional y con la responsabilidad por el manejo integral de los generados en el país y en el proceso de producción, gestión y manejo de los mismos.
	<b>DECRETO 2811 DE 1974</b> Código Nacional de los Recursos Naturales Renovables y de Protección al Medio Ambiente, establece criterios generales acerca de su protección.
	<b>DECRETO 775 DE 1990</b> Determina el uso y manejo de plaguicidas.
	<b>DECRETO 1843 DE 1991</b> Reglamenta la Ley 9 de 1979 sobre uso y manejo de plaguicidas con el objeto de evitar que afecten la salud de la comunidad, la sanidad animal y vegetal o causen deterioro al medio ambiente. Se prohíbe el uso y/o manejo de plaguicidas cuando se ha demostrado que estos representan un grave riesgo para la salud o el medio ambiente.
	<b>DECRETO 1180 DE 2003</b> Determina sobre la importación de plaguicidas que estas se deben realizar teniendo en cuenta el procedimiento de la Decisión Andina 436 del Acuerdo de Cartagena.
	<b>DECRETO 502 DE 2003</b> Sobre el registro y control de plaguicidas químicos de uso agrícola.

N O R M A T I V I D A  N A C I O N A L	<b>DECRETO 1443 DE 2004</b> El presente decreto tiene por objeto establecer medidas ambientales para el manejo de los plaguicidas, y para la prevención y el manejo seguro de los desechos o residuos peligrosos provenientes de los mismos y se toman otras determinaciones.
	<b>DECRETO 4741 DE 2005</b> Establece que los plaguicidas en desuso están sujetos a un Plan de Gestión de Devolución de Productos Post-consumo.
	<b>RESOLUCION 010834 de 1992</b> Establece que todo plaguicida usado en el país debe obtener concepto de clasificación toxicológica y permiso de uso por parte de la autoridad delegada. Además establece una ampliación de las categorías para la clasificación toxicológica de los plaguicidas, teniendo en cuenta nueve criterios para su clasificación.
	<b>Resolución 189 de 1994</b> Se dictan medidas para impedir la entrada al país de residuos peligrosos, entre los cuales se encuentran los plaguicidas.
	<b>RESOLUCION 3079 DE 1995</b> Por la cual se dictan disposiciones sobre la industria, comercio y aplicación de productos de uso agrícola y afines.
	<b>RESOLUCIÓN 1068 DE 1996</b> Se adopta el manual técnico en materia de aplicación de insumos agrícolas, se asignan responsabilidades a los agricultores y a quienes están relacionados con la prescripción y manejo de plaguicidas.
	<b>RESOLUCIÓN 693 DE 2007</b> Establece criterios y requisitos que deben ser considerados para los Planes de gestión de devolución de productos posconsumo de plaguicidas.

Fuente: legislación

## **5 METODOLOGIA**

La metodología se compone de una fase preliminar en la cual se dispusieron todas las condiciones necesarias para el desarrollo de la segunda fase que corresponde al trabajo en el laboratorio con las cuales se dió cumplimiento a los objetivos propuestos y una tercera fase que corresponde al análisis e impacto generado por el plaguicida.

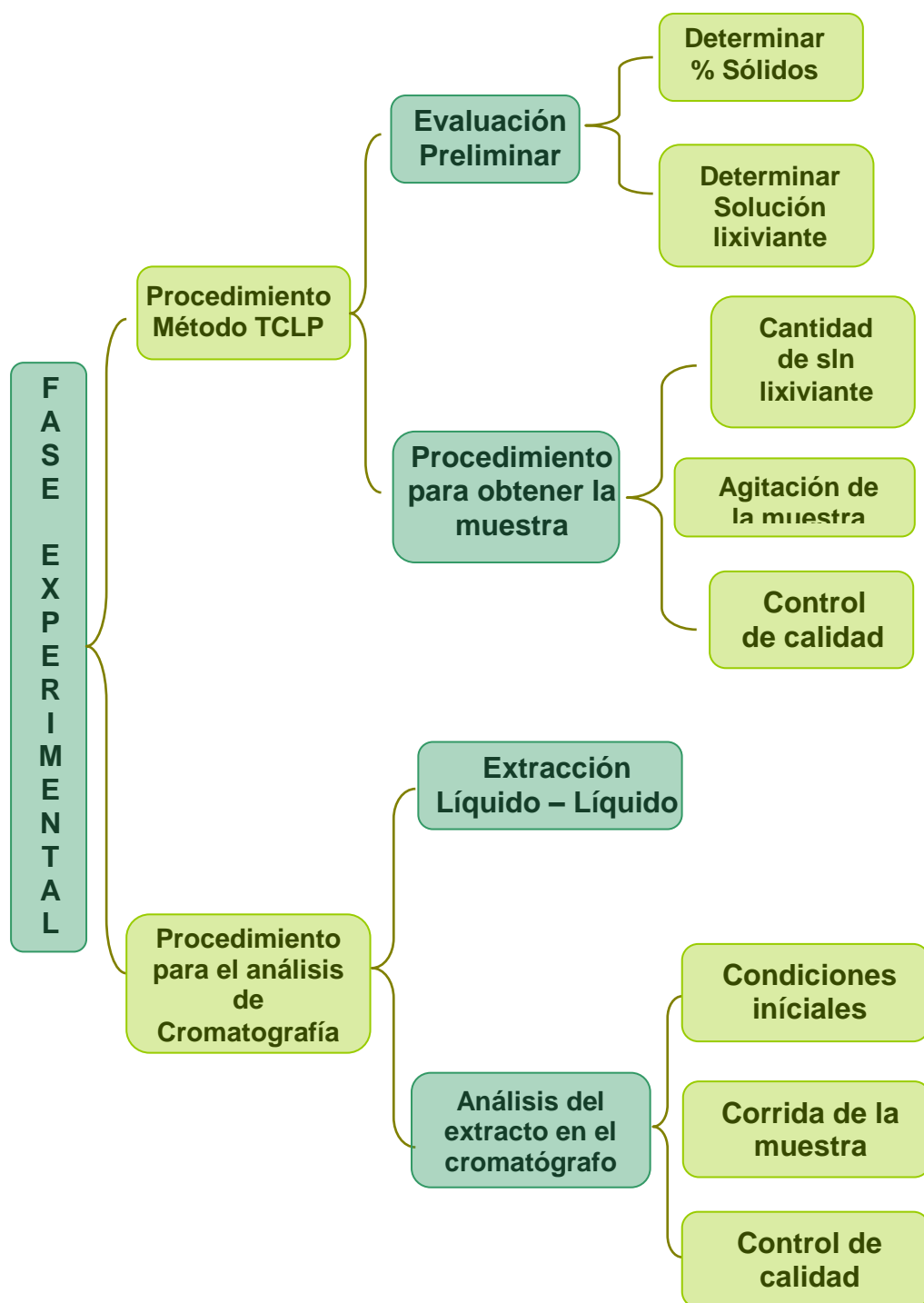
### **5.1 FASE PRELIMINAR**

La fase preliminar consistió en realizar la recopilación bibliográfica sobre plaguicidas, sus efectos, y la metodología y requerimientos necesarios para realizar los análisis de laboratorio correspondientes al test TCLP y cromatografía de gases para compuestos organofosforados.

### **5.2 FASE EXPERIMENTAL**

Esta fase se subdivide en dos partes que corresponden a la implementación del método TCLP para el plaguicida Malathion y el análisis de cromatografía para la determinación de la concentración del extracto TCLP. En la figura N°10 Diagrama de la fase experimental se describe la metodología empleada en cada fase.

Figura N°10. Diagrama fase experimental

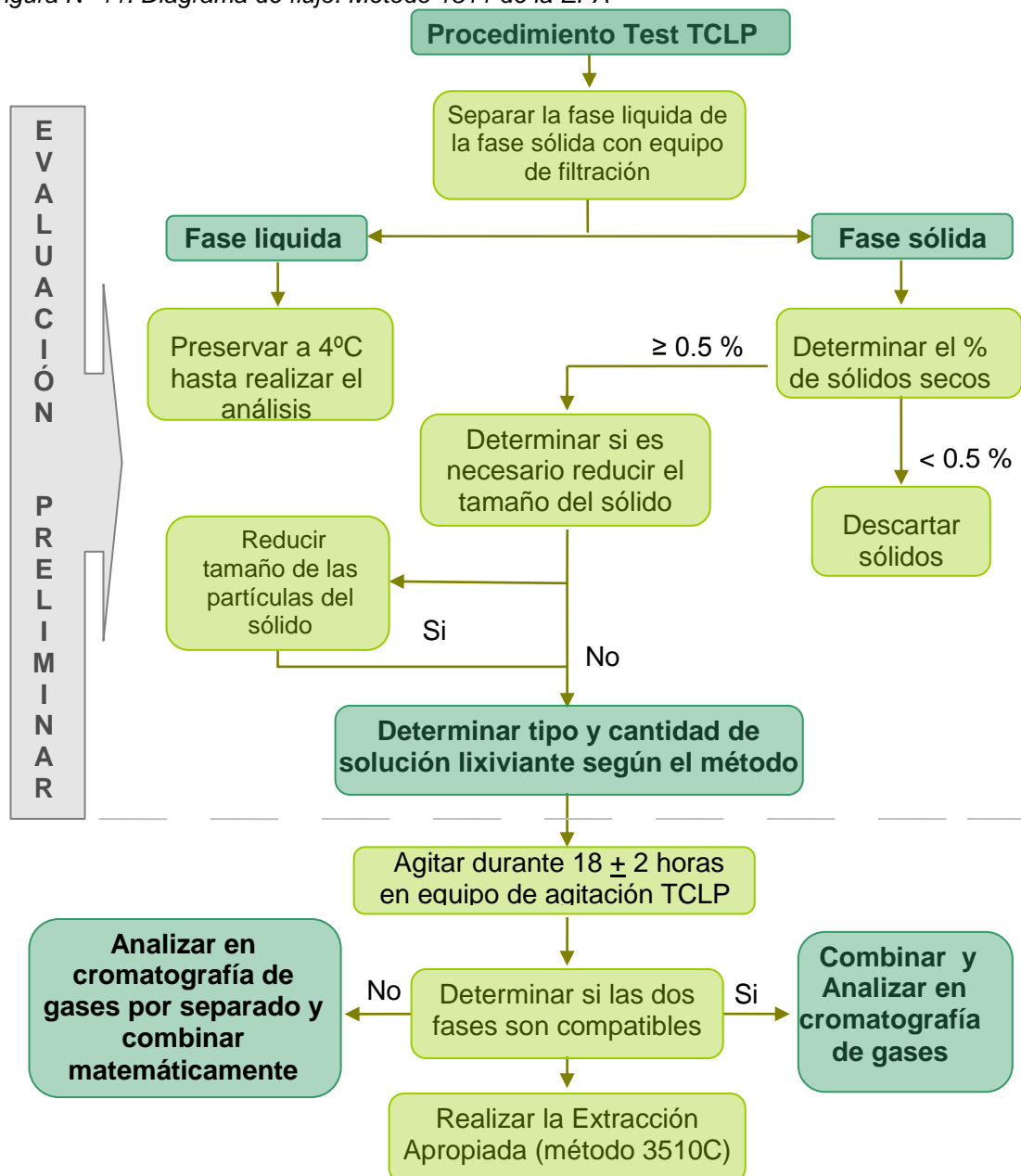


Fuente: Metodo 1311 EPA

### 5.2.1 Procedimiento método TCLP

El procedimiento para desarrollar el test comprende etapas (Figura N°11 Diagrama de flujo. Test TCLP) en las que se determinan los pasos que se deben seguir dependiendo de las características que posee la muestra.

Figura N° 11. Diagrama de flujo. Método 1311 de la EPA



Fuente: Método 1331 de la EPA

En esta figura se describe la implementación del método 1311 de la EPA (Environmental Protection Agency), correspondiente al test TCLP (Toxicity Characteristic for Leaching Procedure), (*Anexo N°2. Método 1311 de la EPA*), ajustado a la presentación del plaguicida Malathion 57% EC.

Es necesario tener en cuenta que antes de obtener la primera muestra es decir, el primer extracto, se requiere realizar una prueba preliminar donde se determinan las condiciones bajo las cuales se consigue el extracto que será objeto de análisis, las fases sólida y líquida que componen la muestra se separan y se llevan a cabo los siguientes pasos.

#### **5.2.1.1 Evaluación preliminar**

Esta evaluación se efectuó para establecer el porcentaje de la fase sólida presente en el plaguicida, y el tipo de solución lixiviante requerido para realizar el ensayo, lo cual determinó el procedimiento para cada una de las muestras obtenidas.

##### **a. Determinación del porcentaje de sólidos**

La presentación del plaguicida Malathion 57% EC tiene una característica aceitosa; ante esta presentación el método 1311 de la EPA indica que los residuos con esta característica pueden contener materiales de apariencia líquida, razón por la cual se realizó la determinación como sigue:

Una vez ajustado el sistema de filtración junto con un filtro de fibra de vidrio de borosilicato de 14 cm de diámetro, se determinó con la densidad del plaguicida el volumen en mililitros equivalente a los 100 grs. (94 ml) de muestra indicados en el método para cada ensayo que se requieren filtrar con ayuda de una bomba ejerciendo presión positiva.



Posteriormente se midió el volumen de la fase líquida obtenida de la filtración que fue en promedio 79.4 ml y se llevó a 4°C entre tanto fue requerida y se procedió a retirar el filtro para ser llevado a una estufa a 120°C durante 2 horas (tiempo estimado por el autor para el secado del filtro) (*Figura N°.12 Determinación del porcentaje de sólidos*).

El porcentaje de sólidos secos se obtuvo mediante la siguiente ecuación determinada por el método 1311 de la EPA:

$$\% \text{ de sólidos secos} = \frac{\text{peso del filtro seco} - \text{peso tarado del filtro}}{\text{peso inicial de la muestra}} * 100$$

*Fuente: método 1311 de la EPA*

Con el porcentaje de sólidos secos se determinó que los sólidos presentes en la muestra debían ser tenidos en cuenta en el estudio de la misma; según el método 1311 de la EPA estos sólidos se analizaron ya que su porcentaje fue superior a 0.5 %. Esta determinación del porcentaje de sólidos secos se realizó 5 veces para comprobar los resultados.

Figura N°12. Determinación del porcentaje de sólidos



Fuente: Autora

## b. Determinación de la solución lixivante

La solución lixivante se determinó tanto para la fase sólida (filtro), según el método 1311 de la EPA, y para la fase líquida (filtrado) ya que la fase que se asume como sólida es solo una capa aceitosa lo cual hace que no se pueda tomar una porción del sólido y que el porcentaje de esta fase no sea representativa con respecto a la cantidad de muestra analizada, además se realizó una prueba previa en el cromatógrafo de gases de estas dos fases para determinar la presencia del ingrediente activo en las dos. (Figura N°13.

*Determinación de la solución lixivante*). La determinación de la solución lixivante se realizó como sigue:

- Se transfirieron en un beaker 96.5 ml de agua grado reactivo y el filtro obtenido de la filtración.
- Después de agitar durante 5 minutos con ayuda de un agitador magnético, se midió el pH y al obtener un valor superior a 5, se agregaron 3.5 ml de ácido clorhídrico (HCl), 1N para determinar la solución lixivante adecuada establecida por el método.

Figura N°13. Determinación de la solución lixivante



Fuente: La Autora

- las soluciones están determinadas por el método así.

*Solución lixivante N° 1:* Agregar 5.7 mL de ácido acético glacial concentrado en 500 mL de agua para análisis, añadir 64,3 mL de NaOH 1N y diluir a un litro. La preparación correcta debe tener un pH de  $4,93 \pm 0,05$ .

*Solución lixivante N° 2:* Diluir 5.7 ml de ácido acético ( $\text{CH}_3\text{COOH}$ ) con agua para análisis hasta 1 litro. La preparación correcta de la solución debe tener un pH de  $2.88 \pm 0.05$ .

- Para la fase líquida se siguió el mismo procedimiento agregando del líquido filtrado el equivalente en mililitros de los 5 grs. indicados en el método.

- Se determinó que la solución lixivante fue la solución N° 1.

#### 5.2.1.2 Procedimiento para obtener la muestra a analizar

Al haber establecido las condiciones expuestas en la evaluación preliminar y determinar a través del cromatógrafo de gases que el ingrediente activo se encuentra en las dos fases de la muestra, se procedió a obtener el extracto de cada una como sigue:

Inicialmente se realizó el mismo procedimiento de filtración se calculó del porcentaje de sólidos descrito en la evaluación preliminar, para cada una de las muestras de las cuales se va a obtener el extracto.

##### a. Determinación de la cantidad de solución lixivante

La cantidad de solución lixivante se determinó para las dos fases mediante las siguientes ecuaciones:

Fase sólida:

$$\text{peso del liquido de extraccion} = \frac{20 * \% \text{ de solidos} * \text{peso del residuo filtrado}}{100}$$

Fuente: Método 1311 de la EPA

Fase líquida:

$$\text{peso del liquido de extraccion} = 20 * \text{peso de la muestra filtrada}$$

Fuente: Método 1311 de la EPA

##### b. Agitación de la muestra

La agitación se realizó adicionando tanto para la fase líquida y la fase sólida (*Figura N°14. Agitación de la muestra*) la cantidad de solución lixivante

determinada por las ecuaciones descritas anteriormente en botellas de extracción por separado; la agitación se llevó a cabo en la unidad de agitación de rotación total con una velocidad angular de  $30 \pm 2$  rpm en un periodo de 18 horas, según lo establece el método 1311.

*Figura N°14. Agitación de la muestra en sistema TCLP*



*Fuente: Autora*

Después de la agitación se procedió a filtrar el contenido de la botella de la fase sólida, para separar la solución de los residuos del filtro.

La solución obtenida corresponde al extracto TCLP, se verificó que las dos fases fuesen compatibles, es decir que no se formaran fases entre ellas por lo que se procedió a unir las para el análisis cromatográfico.

### **c. Control de calidad**

Para el control de calidad en el procedimiento tclp se tuvo en cuenta la limpieza de materiales y equipo.

- **Limpieza de materiales y equipo:** la limpieza de materiales como la vidriería se realizó además de un lavado de agua y jabón, con un lavado de solución sulfocrómica que consiste en una solución de dicromato de potasio y ácido sulfúrico y se utiliza para retirar los restos adheridos de otras sustancias de los materiales que se van a utilizar, (ver anexo N°4) antes de todo el

proceso, y durante el procedimiento se realizaron lavados purgando finalmente el material con el solvente a utilizar (diclorometano,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ), (Ver anexo N°6). La limpieza del equipo TCLP se realizó utilizando el jabón líquido Extran neutro, recomendado por el proveedor para equipos metálicos.

### 5.2.2 Procedimiento para el análisis de cromatografía de gases

Para realizar el análisis de las muestras mediante cromatografía de gases se tuvo en cuenta el método 8141A de la EPA (Anexo N°9) para la identificación del plaguicidas organofosforados adaptando dicho método a las condiciones actuales del laboratorio de Ingeniería Ambiental De La Universidad De La Salle. Además se conto con la *Validación del método instrumental para la determinación de Clorpirifos y Malatión mediante cromatografía de gases de alta resolución con detección por ionización de llama*, que se desarrollo para llevar a cabo las investigaciones sobre plaguicidas para el laboratorio de Ingeniería Ambiental de la Universidad de la Salle. (Ver anexo N°3. *Validación del método instrumental para la determinación de Clorpirifos y Malatión mediante cromatografía de gases de alta resolución con detección por ionización de llama*). Para realizar el análisis cromatográfico se preparó la muestra según el método 3510C de la EPA, como sigue:

#### 5.2.2.1 Extracción de la muestra

Para el análisis mediante cromatografía de gases de los extractos TCLP, se realizó una extracción (*figura N° 15. Extracción de la muestra*) mediante el método 3510C de la EPA (*Anexo N°4. Método 3510C*), extracción líquido-líquido con embudo de separación, ajustando las cantidades allí descritas ya que el método indica utilizar 1 litro de muestra y 60 ml de diclorometano ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ) para realizar la extracción; y en el desarrollo del test TCLP de este trabajo el volumen obtenido después de la agitación de las dos fases de la muestra con la solución lixivante es inferior al indicado en el método por lo

cual se mezclaron 90 ml de muestra y 45 ml de solvente; este volumen se tomó por que la cantidad que se obtuvo de la fase solida con la solución lixivante fue inferior en todas las pruebas a 100 ml. Para realizar la extracción se siguieron los siguientes pasos:

- Se ajusto el pH a 7 con hidróxido de sodio (NaOH) 1M a los 90 ml de muestra.
- Se llevaron los 90 ml de muestra con 15 ml de diclorometano ( $\text{C}_2\text{H}_4\text{Cl}_2$ ) a un embudo de separación de 500 ml.

*Figura N° 15. Extracción de la muestra*



*Fuente: Autora*

- Se agitó el embudo abriendo la llave de paso constantemente para permitir la salida de gas, y se dejó reposar por espacio de 10 minutos tiempo en el cual se verificó que efectivamente hubo separación de fases.
- Se retiró del embudo la fase inferior en un erlenmeyer y se realizó este proceso dos veces más, agregando entonces 45 ml de diclorometano ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ) en todo el proceso de extracción, con el fin de separar los componentes presentes en la muestra para su posterior análisis.

- Después de las tres extracciones, este contenido se colocó en un embudo de separación mas pequeño dejándolo por espacio de 10 minutos sin necesidad de agitar.
- Se filtro y se obtuvo de esta manera el extracto que se llevó al cromatógrafo de gases para ser analizado.

Para realizar las lecturas en el cromatógrafo fue necesario diluir los extractos obtenidos con el fin de que sus resultados se encontraran dentro del rango determinado en la calibración y poder así obtener los datos de los picos señal - respuesta de las muestras, además de prevenir la saturación de la columna del cromatógrafo.

El cálculo de las diluciones se realizó a partir de la concentración inicial del plaguicida (604 gr/l) y la concentración que se obtiene en el extracto de cada muestra, además se determinó una concentración dentro del rango de la validación del método para leer la muestra en el cromatógrafo y establecer la concentración real de la muestra.

#### **5.2.2.2 Análisis en cromatografía**

El análisis fue realizado a través de un cromatógrafo de gases Trace GC ultra marca Termo finnigan, con las características descritas en la Validación del método instrumental para la determinación de malatión mediante cromatografía de gases en la sección 3.8.

Las condiciones cromatográficas seleccionadas para la separación de los compuestos presentes en la mezcla estándar y la determinación de malatión fueron las siguientes:



**Volumen de inyección:** 2.0 µL (modo splitless)

**Temperatura del inyector:** 250 °C

**Temperatura del detector:** 280 °C

**Gas transportador:** Nitrógeno a un flujo constante de 0.8 mL / min.

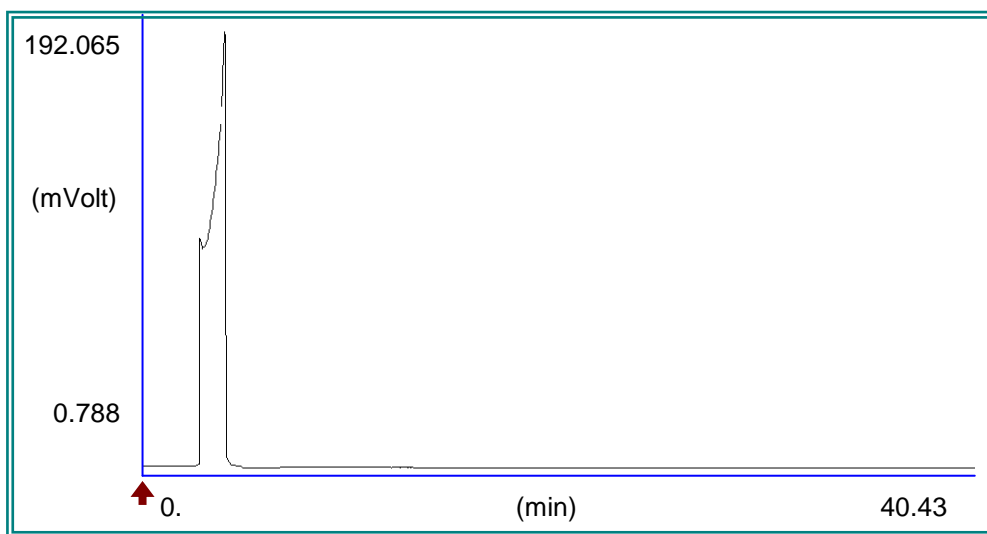
**Gas combustible:** Aire: 300 mL / min. Hidrógeno: 30 mL/min.

**Gas Make up:** Helio: 35 mL / min.

**Temperatura del horno:** inicio 60 °C durante 1 min. Luego un gradiente de 7 °C/min. hasta 210 °C y una permanencia a esta temperatura de 10 min., se realiza nuevamente un gradiente de temperatura a 5 °C/min. hasta 250 °C con una permanencia a esta temperatura de 10 min. para un tiempo total de análisis de 40 min.

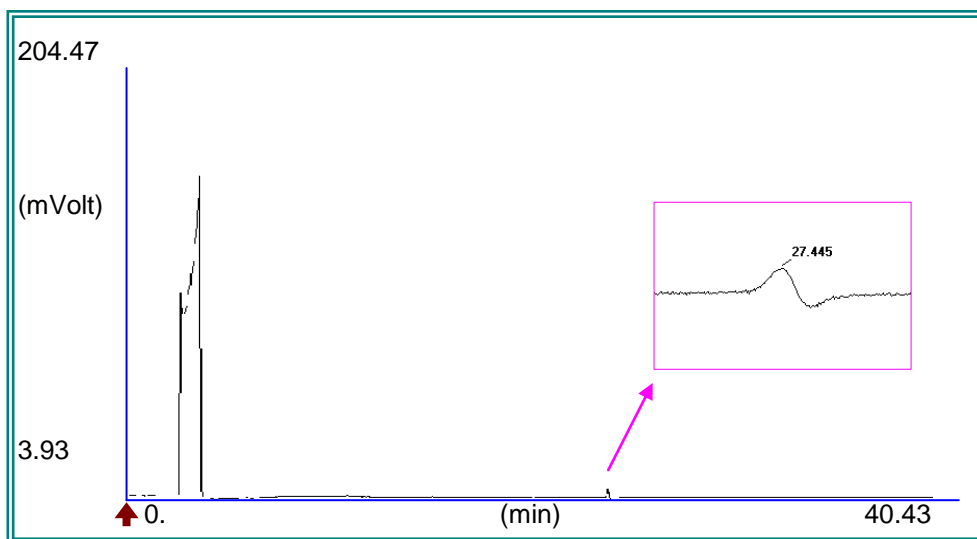
A partir de estas condiciones se realizaron las corridas de las muestras a analizar iniciando con una prueba que consistió en una corrida con el solvente diclorometano ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ), con el fin de verificar que la columna no estuviese contaminada, lo que demostró que no existía ninguna interferencia (*Figura N° 16 Cromatograma de diclorometano*), también en la en la *Figura N°17. Cromatograma de identificación de malatión*, se muestra el pico respuesta generado a partir de los ensayos del plaguicida que fue objeto de estudio en el presente trabajo, en este cromatograma se obtuvo el pico (señal- respuesta) dentro del rango de tiempo de elusión de 26,8900 - 27,0480 minutos determinado en la calibración.

Figura N° 16. Cromatograma de diclorometano



Fuente: Autora

Figura N°17. Cromatograma de malatión



Fuente: Autora

#### a. Control de calidad

En el control de calidad se tuvo en cuenta:

- **Prueba blanco:** Esta prueba se realizó para compararla con las muestras y verificar la no existencia de interferencias en la realización de los

ensayos, se efectuó realizando la agitación de 18 horas en la unidad de agitación y el análisis cromatográfico sin utilizar el plaguicida, usando solamente la solución lixiviante utilizada para las muestras. (Ver anexo N° 5. Cromatogramas).

- La preservación de las muestras en viales de 4 ml a 4°C.
- Para la inyección de las muestras se tuvo en cuenta:
  - En el sistema de inyección se realizó pre purga, purga, post purga.

Este lavado se realiza para evitar contaminación de la jeringa. Emplea el solvente a usar para la limpieza antes de la inyección y después de la inyección.

- Realizar un lavado de la microjeringa cada 7 muestras inyectadas, este lavado se realizó colocándola en una probeta con hexano y ubicándola en el ultrasonido durante 10 minutos sin calentamiento.

### 5.3 IDENTIFICACION DEL IMPACTO AMBIENTAL

La identificación del impacto se determinó a través de un análisis de los resultados teniendo en cuenta normatividad y parámetros toxicológicos. Finalmente se valoró mediante una matriz de importancia del impacto que permite determinar la magnitud del efecto (*Tabla N°6. Modelo de la matriz de Importancia del Impacto*) de la guía metodológica para la evaluación del impacto ambiental, de Conesa Fernández Vitoria; la elaboración de esta matriz obedece al tipo de análisis que se realiza, ya que en este caso no existen fases que correspondan a un proyecto lo que se establece en la metodología de los diferentes modelos de matrices de impacto, en este caso corresponde a una acción específica como la aplicación directa del plaguicida, esta matriz permite

obtener un valor para estimar la magnitud del impacto a través de elementos generados por la acción.

Tabla N°6. Modelo de la matriz de importancia del impacto

IMPORTANCIA DEL IMPACTO			
NATURALEZA		INTENSIDAD (I) (GADO DE DESCTRUCCION)	
Impacto beneficioso	+	Baja	1
		Media	2
Impacto perjudicial	-	Alta	4
		Muy alta	8
		Total	12
EXTENSION (EX) (Área de influencia)		MOMENTO (MO) (Plazo de manifestación)	
Puntual	1	Largo plazo	1
Parcial	2	Medio plazo	2
Extenso	4	Inmediato	4
Total	8	Critico	(+4)
Critica	(+4)		
PERSISTENCIA (PE) (Permanencia del efecto)		REVERSIBILIDAD (RV)	
Fugaz	1	Corto plazo	1
Temporal	2	Medio plazo	2
Permanente	4	Irreversible	4
SINERGIA (SI) (Regularidad de la manifestación)		ACUMULACION (AC) (Incremento progresivo)	
Sin sinergismo (simple)	1	Simple	1
Sinérgico	2	Acumulativo	4
Muy sinérgico	4		
EFECTO (EF) (Relación causa - efecto)		PERIODICIDAD (PR) (Regularidad de la manifestación)	
Indirecto (secundario)	1	irregular o aperiódico y discontinuo	1
Directo	4	Periódico	2
		Continuo	4

RECUPERABILIDAD (MC) (Reconstrucción por medios humanos)		IMPORTANCIA (I)
Recuperable de manera inmediata	1	$I = \_ + (3 I + 2 EX + MO + PE + RV + SI + AC + EF + PR + MC)$
Recuperable a medio plazo	2	
Mitigable	4	
Irrecuperable	8	

Fuente: Conesa fernandez Vitora. Guía metodológica para la evaluación Del impacto ambiental, p.95

**Intensidad:** Se refiere al grado de incidencia de la acción sobre el factor.

**Extension:** Se refiere al área de influencia teórica del impacto en relación con el entorno.

**Momento:** Es el plazo de manifestación del impacto, hace referencia al tiempo que transcurre entre la aparición de la acción y el comienzo del efecto.

**Persistencia:** Se refiere al tiempo que supuestamente permanecería el efecto desde su aparición y el tiempo en que retornaría a sus condiciones naturales por medios naturales.

**Reversibilidad:** Se refiere a la posibilidad de reconstrucción del factor afectado por medios naturales.

**Recuperabilidad:** Se refiere a la posibilidad de reconstrucción por medios de la intervención del hombre es decir con medidas correctivas.

**Sinergia:** Cuando una acción actuando sobre un factor, no es sinérgica con otras acciones que actúan sobre el mismo factor, el atributo toma el valor de 1, si presenta un sinergismo moderado 2, y si ES altamente sinérgico 4.

**Acumulación:** Se refiere a un incremento progresivo de la manifestación del efecto, cuando persiste de forma continuada o reiterada la acción que lo genera.

**Efecto:** Este atributo se refiere a la relación causa- efecto, es decir a la forma de manifestación del efecto sobre un factor, como consecuencia de una acción.

**Periodicidad:** Se refiere a la regularidad de manifestación del efecto.

**Importancia:** La importancia del impacto se representa en una ecuación en la que el resultado toma valores entre 13 y 100.

## 6 ANALISIS Y RESULTADOS

En el desarrollo de los objetivos propuestos se realizaron 10 ensayos de laboratorio en los que se generaron cromatogramas respectivos para cada muestra (Anexo N°5. Cromatogramas), a partir de los cuales se obtuvieron los resultados y análisis que se presentan a continuación (*Tabla N°7. Tabla de resultados*) además, se diseñaron dos protocolos para el procedimiento del método TCLP y cromatografía de gases en compuestos organofosforados para la detección de malatión.

Las concentraciones obtenidas a partir de la inyección de 2 µl de cada muestra de extracto tclp en el cromatógrafo se encuentran en un rango de 90,60 ppm y 112,74 ppm las cuales teniendo en cuenta el porcentaje de recuperación determinado por el método de extracción 3510C EPA, corresponden a una concentración real de 113250,42 ppm y 140929,39 ppm de ingrediente activo presente en la muestra que se puede lixiviar y por lo tanto contaminar el agua subterránea; también se establece la cantidad de principio activo presente en el plaguicida que puede quedar retenido en un rango de 203608,08 ppm – 231283,08 ppm.

Estas concentraciones representan un porcentaje de lixiviación menor que el porcentaje retenido mostrando que el mayor impacto generado se puede dar en el suelo; el malatión es poco persistente lo que indica que su periodo de degradación no es largo, sin embargo por ser un compuesto orgánico al descomponerse pueden dar lugar a otras sustancias intermedias ocasionadas por reacciones químicas y microbiológicas que pueden afectar el medio, la parte del plaguicida que se mezcla con el agua indica que la movilidad del plaguicida no es alta pues el lixiviado corresponde a un porcentaje promedio de 37%; sin embargo estos valores representan una referencia y en campo pueden variar influyendo en la retención en suelo y en la lixiviación debido a la

Tabla N° 7.tabla de Resultados

N° de Muestra	Concentración obtenida en el C.G (ppm)	Miligramos en la muestra	Concentración del extracto (ppm)	Concentración de ppio activo del plaguicida (ppm)	% de Recuperación	Concentración Real (ppm)	% real de Obtención por TCLP	Concentración de plaguicida retenido (ppm)	% de plaguicida retenido
1	109,61	0,438	109605,03	344280	80	137006,29	39,80	207526,79	60, 20
2	91,46	0,366	91460,00	344280	80	114325,00	33,21	230208,08	66,79
3	90,60	0,362	90600,00	344280	80	113250,00	32,89	231283,08	67,11
4	105,79	0,423	105793,79	344280	80	132242,24	38,41	212290,84	61,59
5	103,35	0,413	103350,00	344280	80	129187,50	37,53	215345,58	62,47
6	106,23	0,425	106230,00	344280	80	132787,50	38,57	211745,58	61,43
7	97,29	0,389	97289,32	344280	80	121611,65	35,32	222921,43	64,68
8	100,06	0,400	100060,00	344280	80	125075,00	36,33	219458,08	63,67
9	112,74	0,451	112740,00	344280	80	140925,00	40,93	203608,08	59,07
10	103,54	0,414	103543,75	344280	80	129429,68	37,59	215103,40	62,41

Fuente: Autora

\* Ver anexo N°6. Muestra de cálculo.



precipitación y la profundidad a la que se encuentra el agua subterránea, además del contenido de materia orgánica presente en el suelo, lo que hace que la lixiviación sea mas lenta por lo tanto la adsorción del plaguicida a las partículas del suelo será mayor aumentando su persistencia.

## **6.1 EVALUACION DE RESULTADOS SOBRE LA SALUD Y MEDIO AMBIENTE**

Teniendo en cuenta los resultados expuestos en la tabla anterior (tablaN°7), se puede ver que estos valores de concentración obedecen a que el análisis se hizo con el plaguicida sin ninguna dosificación para cultivo, es decir se utilizó en su concentración y presentación comercial ya que el fin de la evaluación es identificar su impacto en un caso de un derrame; con base a lo anterior se presenta un análisis de la magnitud del daño generado sobre la salud y medio ambiente, teniendo en cuenta parámetros de toxicidad para el plaguicida y normas de legislación colombiana con respecto a los niveles establecidos para compuestos organofosforados como se indica en la *tabla N°8. Comparación de toxicidad*, donde se hace una relación entre el parámetro o norma y el numero de veces que la concentración encontrada en las muestras esta por encima de dichos niveles establecidos, además de la matriz de importancia de los impactos generados, con lo cual se determina la característica de toxicidad tanto del lixiviado como del porcentaje de plaguicida que puede quedar retenido.

Tabla N°8. Comparación de toxicidad

COMPARACION DE TOXICIDAD				
PARAMETRO TOXICOLOGICO** / NORMA			EQUIVALENCIA DE AFECTACION	
			Concentración en el lixiviado*	Concentración de plaguicida retenido*
			127585,62 ppm	216694,38 ppm
			El numero de equivalencia se refiere a las veces que esta por encima del parámetro para cada caso	
Oral	DI 50 en ratas machos	2372 mg/Kg	53,8	91,5
	DI 50 en ratas hembras	1915 mg/Kg	66,6	113,3
Dérmica	DI 50 en conejos machos	1659 mg/Kg	76,9	130,6
	DI en conejos hembras	2170 mg/Kg	58,8	99,86
Resolución	1074/97 (Vertimientos)	0,1 ppm	1275856,2	2166943,8
Decreto	1594/84 (Usos del agua, preservación de fauna y flora)	0,05 ppm	2551712,5	4333887,5

\* La concentración equivale al promedio de las concentraciones de los 10 ensayos.

\*\* Los parámetros son los determinados en la hoja de seguridad del plaguicida. (Anexo N°1).

Al establecer la comparación toxicológica se puede observar que el grado de incidencia en la dosis letal oral, DI50 oral, en ratas machos se excede el valor 53,8 veces lo que indica que morirían 2690 ratas machos mas y 3330 ratas hembras; en la dosis letal dérmica se afectarían a 3845 conejos hembras y 2940 conejos machos mas; además según la EPA, la concentración a la que una persona puede estar expuesta al malatión sin causar ningún daño al ser consumido es de 0,1 ppm y según la OSHA hay un limite de 15 mg/m<sup>3</sup> de aire durante jornadas de 8 horas diarias<sup>42</sup>, indicando que las concentraciones obtenidas superan todos los niveles posibles regulados ocasionando gran

<sup>42</sup>ATSDR. Agency for Toxic Substances & Disease Registry. Malatión  
[http://www.atsdr.cdc.gov/es/toxfaqs/es\\_tfacts154.html](http://www.atsdr.cdc.gov/es/toxfaqs/es_tfacts154.html). Artículo. citado el 23 de junio de 2008.

afectación tanto a las especies presentes como las personas que pudieran estar expuestas a estas concentraciones, afectando su sistema nervioso por la intervención del malatión con la acetilcolinesterasa.

Se comparó la resolución 1074/97 sobre concentraciones máximas permisibles y el decreto 1594/84 sobre usos del agua y residuos líquidos, específicamente en este caso sobre fauna y flora; ya que estas normas hacen referencia al uso y calidad del agua, mostrando que se exceden los niveles en mas del uno por mil, de igual manera se exceden los parámetros toxicológicos; determinando con estos resultados que el grado de incidencia y afectación ocasionado por la aplicación del plaguicida en las concentraciones anteriormente descritas, es decir en el caso de aplicar directamente sobre el suelo y al dirigirse al agua subterránea el plaguicida ocasionaría un daño a todas las especies presentes en el medio, por que las concentraciones de referencia son muy bajas y la concentración del plaguicida en aplicación directa sobrepasa esos valores en el numero de veces descritos en el cuadro anterior (tabla N°8).

Teniendo en cuenta las dosificaciones recomendadas para algunos cultivos como el de frutas que equivalen a una concentración que va desde 2140 ppm a 6420 ppm y la concentración promedio obtenida del suelo se supera este valor de 34 a 101 veces la concentración de la dosificación; de igual manera para un cultivo de rosa la concentración es de 1070 ppm superándose este valor 203 veces mas, y 34 veces mas para un cultivo de cafeto lo que representa no solo el aumento del rango de malatión permitido en los alimentos sino la afectación al propio cultivo.

## **6.2 VALORACIÓN DE LOS IMPACTOS**

Se estableció mediante la matriz de importancia de la guía metodológica para la evaluación del impacto ambiental de Conesa fernandez Vitora, (*Tabla N°9*.

*Matriz de Importancia del impacto*) el nivel de importancia del impacto generado por el plaguicida en su aplicación, obteniendo una valoración del impacto basados en el hecho de una aplicación sin dosificación del plaguicida que ocasionarían los eventos descritos en la tabla anterior (tabla N°8).

Tabla N°9. Matriz de importancia del impacto.

IMPORTANCIA DEL IMPACTO			
NATURALEZA		INTENSIDAD (I) (GRADO DE DESTRUCCION)	
Impacto beneficioso		Baja	
		Media	
Impacto perjudicial	-	Alta	
		Muy alta	
		Total	12
EXTENSION (EX) (Área de influencia)		MOMENTO (MO) (Plazo de manifestación)	
Puntual		Largo plazo	
Parcial	2	Medio plazo	
Extenso		Inmediato	4
Total		Critico	
Critica			
PERSISTENCIA (PE) (Permanencia del efecto)		REVERSIBILIDAD (RV)	
Fugaz		Corto plazo	
Temporal	2	Medio plazo	2
Permanente		Irreversible	
SINERGIA (SI) (Regularidad de la manifestación)		ACUMULACION (AC) (Incremento progresivo)	
Sin sinergismo (simple)		Simple	1
Sinérgico	2	Acumulativo	
Muy sinérgico			

EFECTO (EF) (Relación causa - efecto)		PERIODICIDAD (PR) (Regularidad de la manifestación)	
Indirecto (secundario)		irregular o aperiódico y discontinuo	1
Directo	4	Periódico	
		Continuo	
RECUPERABILIDAD (MC) (Reconstrucción por medios humanos)		IMPORTANCIA (I)	
Recuperable de manera inmediata		$I = \pm ((3*12) + (2*2) + 4 + 2 + 2 + 1 + 1 + 4 + 1 + 2)$  <b><math>I = - 58</math></b>	
Recuperable a medio plazo	2		
Mitigable			
Irrecuperable			

**Naturaleza:** Es negativa porque el plaguicida además de atacar directamente las plagas que son el objetivo de su aplicación, este genera un impacto negativo sobre el medio cambiando sus condiciones iniciales.

**Intensidad:** El grado de incidencia tiene un valor de 12 que corresponde a un grado de destrucción total, debido a que la aplicación del plaguicida y el arrastre que se pueda ocasionar por factores como el agua lluvia, afectaría como se determinó en la tabla N° 8 en gran proporción tanto al suelo donde se aplique como al agua subterránea que se vea afectado por la lixiviación y las especies o microorganismos allí presentes ocasionando la destrucción del medio.

**Extensión:** El área de influencia (2) es parcial porque afecta directamente el punto donde es aplicado o derramado y además el porcentaje de plaguicida que lixivia afecta en el agua subterránea.

**Momento:** Se determinó que el plazo de manifestación es 4, por que el tiempo en el que se manifiestan los efectos generados por el plaguicida es inmediato debido a la concentración en la que se encuentra cuando sea derramado.

**Persistencia:** La persistencia es de 2, temporal ya que con medidas de corrección al medio afectado se puede retornar a condiciones que permitan el habita de nuevos microorganismos y suelos con capacidad de producción.

**Reversibilidad:** Es de mediano plazo (2) debido a que el plaguicida es poco persistente, lo que permitiría que en un tiempo determinado el suelo donde este se aplique o derrame retorne a sus condiciones normales, tiempo que esta determinado por la cantidad de plaguicida vertido y por el contenido de materia orgánica en el suelo ya que la adsorción del plaguicida es mayor en suelos con contenidos de materia orgánica, variando el tiempo de reversibilidad según el tipo de suelo.

**Sinergia:** El sinergismo tiene un valor de 2 por que al ser el plaguicida un compuesto orgánico se puede descomponer y dar lugar a otras sustancias que afecte el medio debido a reacciones químicas o microbiológicas.

**Acumulación:** El valor corresponde a 1, es decir incremento progresivo simple por que no hay acumulación debido a que se trata de un derrame, sin embargo por su concentración se incrementa el daño generado en el suelo.

**Efecto:** El efecto es de 4, directo, por que al existir un derrame que es un evento accidental, se genera un efecto sobre al suelo, agua, flora y fauna en mayor proporción, cambiando sus condiciones naturales.

**Periodicidad:** Es irregular con un valor de 1, porque en el caso de un cultivo el sitio de aplicación y formulación pueden variar, también puede ser irregular en el sentido de presentarse un derrame en este caso no es un evento constante pero de gran afectación al medio.

**Recuperabilidad:** Es de mediano plazo porque además de que existan métodos de recuperación del medio, estos pueden variar por el tipo desuelo y de tratamiento específico que se necesite.

**Importancia:** 58.

Este valor se encuentra dentro del rango que representa un impacto severo según lo propuesto por *Conesa Fernandez*, dentro de la matriz los elementos que representan un efecto mayor son la intensidad, el momento y el efecto generando un mayor impacto causado debido a las concentraciones que se generaron en las pruebas, aunque por el nivel de afectación que se evidenció en la *tabla N°8. Comparación de toxicidad* podría decirse que el nivel de afectación es mayor, lo que lo hace severo y no crítico son la persistencia del plaguicida y su mediana lixiviación que son características propias del compuesto, la extensión y el hecho de que existan la posibilidad de recuperar el medio.

Al jerarquizar los elementos de mayor a menor importancia en el evento se encuentra que la intensidad es decir el grado de destrucción es el más alto teniendo en cuenta la acción de un derrame y en menor representación se encuentra la acumulación y periodicidad que se refieren a la reincidencia de la acción.

### 6.3 PROTOCOLOS DE PROCEDIMIENTO

A partir de los ensayos de laboratorio se diseñaron los siguientes protocolos para su aplicación en compuestos con características físicas y químicas similares al plaguicida objeto de estudio:

#### 6.3.1 Protocolo para la implementación de la metodología del test TCLP:

En este protocolo se describe paso a paso el procedimiento para emplear el

test en sustancias con características físicas aceitosas. (*Anexo N°7. TEST TCLP, protocolo para la implementación de la metodología del test TCLP*). Su contenido es:

1. *Objetivo.* Describir el procedimiento para el método 1311 EPA.
2. *Alcance.* El desarrollo de este procedimiento es para sustancias con una característica específica.
3. *Teoría.* describe en general en que consiste el método 1311 de la EPA
4. *Interferencias.* Se generan por los métodos analíticos
5. *Equipos y materiales.* Especifica los elementos necesarios para el desarrollo del test en el laboratorio.
6. *Reactivos.* Indica las soluciones que se requieren para el lavado de materiales y para la agitación de la muestra.
7. *Procedimiento.* Indica paso a paso la forma en la que se obtiene el extracto tclp
  - 7.1 *Limpieza de equipos y materiales.* Describe como se deben limpiar los materiales de vidrio y el equipo tclp.
  - 7.2 *Evaluación preliminar.* Indica los pasos que se deben tener en cuenta antes de iniciar los ensayos.
  - 7.3 *Procedimiento para obtener el extracto.* Describe como se debe realizar la filtración y agitación para obtener el extracto.
  - 7.4 *Control de calidad y manejo de residuos.* Indica como se deben conservar las muestras y que se deben tener en cuenta para el manejo del residuo generado en el procedimiento.



8. *Diagrama de flujo.* Corresponde al resumen del procedimiento tclp.

9. *Bibliografía*

**6.3.2 Protocolo de procedimiento para cromatografía de gases en compuestos organofosforados:** Se describen las características y procedimiento que se debe tener en cuenta para correr las muestras de compuestos organofosforados. (*Anexo N°8. Protocolo para cromatografía de gases. Procedimiento para cromatografía de gases en compuestos organofosforados*). Su contenido es:

1. *Objetivos.* Establece el procedimiento para compuestos organofosforados como malatión.
2. *Alcance.* El procedimiento se describe para compuestos de características químicas como el plaguicida malatión.
3. *Teoría.* Define la cromatografía de gases y cuales son sus componentes.
4. *Interferencias.* Están determinadas por el método analítico.
5. *Equipos, materiales y reactivos.* Indica cuales elementos se deben tener en cuenta para realizar las lecturas de las muestras en el cromatografo.
6. *Procedimiento.* Establece los pasos que se deben seguir para el análisis de cromatografía.

6.1 *Condiciones iniciales del cromatógrafo.* Indica cuales condiciones se requieren para leer muestras organofosforadas a partir de la calibración.

6.2 *Extracción líquido – líquido.* Describe como desarrollar el método 3510C EPA.

6.3 *Análisis en el cromatógrafo.* Indica los pasos para el manejo del cromatógrafo.

6.4 *Control de calidad.* Describe como realizar el lavado de la microjeringa y como almacenar las muestras.

7. *Diagrama de flujo.* Representa el resumen del procedimiento de cromatografía.

8. *Bibliografía.*

## **7 CONCLUSIONES**

- Se implementó el test TCLP con un plaguicida de ingrediente activo Malathion en el laboratorio de Ingeniería Ambiental de la Universidad de la Salle, con el propósito de establecer la característica de toxicidad del mismo mediante esta técnica.
- Se realizaron 10 ensayos con un volumen inicial de 94 ml, de este volumen, en la etapa de filtración del plaguicida se obtuvo un valor promedio de 78 ml de fase líquida, y 4,76 gramos de fase sólida en base seca representados por una capa aceitosa retenida en el filtro de fibra de vidrio, a partir de los cuales posterior a la etapa de agitación se adquirió el extracto TCLP.
- Se diseñaron protocolos de procedimiento para emplear las técnicas de TCLP y cromatografía de gases en compuestos organofosforados los cuales proporcionan una guía de referencia para emplear los métodos en el laboratorio de Ingeniería ambiental de la Universidad de la Salle.
- Las concentraciones obtenidas en las pruebas TCLP determinan que el grado de toxicidad del plaguicida con ingrediente activo malatión superan la normas establecidas en el país de compuestos organofosforados; en cuanto a vertimientos la norma indica una concentración máxima de 0,1 ppm, y en usos del agua se establece para fauna y flora acuática un máximo de 0,05 ppm, mientras que el resultado obtenido de la lixiviación fue en promedio de 127585,62 ppm.

- Los valores determinados en los parámetros de toxicidad son superados en lixiviación entre 53,8 – 76,9 veces más de lo establecido; y en plaguicida retenido se superan los valores entre 91,5 – 130,6 veces más.
- Se determinó a partir de las concentraciones obtenidas que el 63% que corresponde a un promedio de 216694,38 ppm del plaguicida queda retenido, y el 37% es decir 127585,62 ppm corresponde a la cantidad de plaguicida que puede lixiviar, con lo que se puede establecer que la lixiviación de la sustancia es moderada.
- De acuerdo con la matriz de importancia, el impacto ocasionado por el derrame del plaguicida es severo por causa de la intensidad del evento y la manifestación inmediata del efecto representada con el mayor valor en la matriz de importancia realizada.
- Aunque los compuestos organofosforados sustituyen a los compuestos organoclorados por tener un menor nivel toxico, representan un nivel de peligrosidad considerable si estos no son utilizados teniendo en cuenta las normas técnicas de uso, manejo y aplicación de plaguicidas, lo que afecta directamente al medio donde es aplicado en mayor o menor proporción dependiendo de factores como la dosificación y almacenamiento del producto además de las características del suelo.

## **8 RECOMENDACIONES**

- Es necesario establecer con exactitud el procedimiento que se debe seguir de acuerdo a la característica físicas de la sustancia, antes de obtener los extractos ya que de ello depende el correcto desarrollo del test.
- Antes de finalizar el procedimiento se deben establecer las condiciones en las que se deben disponer los residuos, teniendo en cuenta el posible volumen que se va a generar y la forma en la que se debe almacenar dentro del laboratorio, además de consultar una empresa externa que se encargue de su disposición final.
- Continuar con la inclusión del test TCLP en estudios que permitan realizar comparaciones entre pruebas estándar y pruebas realizadas con muestras del medio posiblemente afectado.

## **9 BIBLIOGRAFIA**

ASSOCIATED DESIGN & MANUFACTURING COMPANY. Especificaciones del equipo. 8245-K Backlick Road, Lorton, Virginia 22079 USA

BAEBERA, Claudio. Pesticidas agrícolas. Barcelona. Editorial omega. 1967.

CAMARA DE LA INDUSTRIA PARA LA PROTECCION DE CULTIVOS ANDI. Guías ambientales para el subsector de plaguicida. 1 ed. Ministerio de medio ambiente vivienda y desarrollo territorial. 2003.

CHROM-CARD S/W. Manual de Instrucciones para el TRACETM Versión 2.00 Edición (versión en ingles) Abril 2001.

CORNARE Y MVDT. Lineamientos generales para abordar la problemática del uso y manejo de plaguicidas. ICONTEC. 2005.

DIVISION AGROPECUARIO. Malathion al 57% emulsionable. Usos en la industria cyanamid de Colombia S.A. Bogotá.

ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY – EPA. Method 1311 Toxicity Characteristic Leaching Procedure. SW846.

--- Method 3510c Separatory Funnel Liquid-Liquid Extraction.

--- Method 8141<sup>a</sup> Organophosphorus Compounds by Gas Chromatography: Capillary Column Technique.

INSTITUTO TECNOLÓGICO GEOMINERO DE ESPAÑA. Las aguas subterráneas y los plaguicidas. Dirección de aguas subterráneas y geotecnia, 1988.

LOPEZ CARRILLO, Lizbeth. Exposición a los plaguicidas organofosforados. Instituto de salud pública. 1993.

LOPEZ TORRES, Marcos. Envenenamiento por pesticidas, animales, plantas, sustancias y plaguicida.mexico. Editorial trillas. 2001

MABRES, Martha. Uso de plaguicidas. Guías de agricultura y ganadería. Editorial CEAC. 1999.

MCNAIR, Harold. Cromatografía de gases. Programa regional de desarrollo científico y tecnológico. Washington. Secretaria nacional de la organización de los estados americanos.1981.

MORENO GRAU, Maria Dolores. Toxicología ambiental, evaluación de riesgo para la salud humana. Ed. Mc Graw Hill. 2003.

KCREMLYN. Plaguicidas modernos y su acción bioquímica. Noriega editores 1990.

PRAMAURO, Edmundo. Los pesticidas y el medio ambiente. Univesitat de valència, 1990.

ROBINSON, Judith. Química analítica contemporánea. 1 ed. Editorial Pearson educación. 2000.

VALLEJO ROSERO, María del Carmen. Toxicología ambiental. 1 ed. Fondo nacional universitario 1997.

ATSDR. Agency for toxic substances and disease registry. Malatión.

[http://www.atsdr.cdc.gov/es/toxfaqs/es\\_tfacts154.pdf](http://www.atsdr.cdc.gov/es/toxfaqs/es_tfacts154.pdf)

CENMA. Centro nacional del medio ambiente y División de recursos hídricos y medio ambiente. Uso de test de lixiviación para caracterización de residuos del área minera y reflexiones sobre gestión de residuos peligrosos en América Latina. <http://www.bvsde.paho.org/bvsaidis/resisoli/peru/chires020.pdf>

RAPAM. Red de acción sobre plaguicidas y alternativas en México. Convenios internacionales relacionados con la reducción y/o eliminación de plaguicidas.

[www.cedaf.org.do/eventos/seminario\\_agro\\_trans/22012007/Convenios.ppt](http://www.cedaf.org.do/eventos/seminario_agro_trans/22012007/Convenios.ppt)

Curso de auto instrucción Introducción a la toxicología de la contaminación del aire. Reconocimiento de situaciones peligrosas y síntomas de toxicidad.

[http://www.cepis.ops-ms.org/bvsci/e/fulltext/toxicol/lecc6/lecc6\\_2.html](http://www.cepis.ops-ms.org/bvsci/e/fulltext/toxicol/lecc6/lecc6_2.html).



ANIBAL BOLIVAR, Jorge. Vigilancia de las condiciones ambientales en eventos de intoxicaciones, accidentes o emergencias por sustancias químicas– plaguicidas (xenobioticos).

<http://www.dssa.gov.co/download/Guiasplaguicidas.pdf>

ENVIRONMENT, Healt and Safety Online. The EPA TCLP: Toxicity characteristic leaching procedure and characteristic wastes.

<http://www.ehso.com/cssepa/TCLP.htm>

SALUD PÚBLICA. Toxicidad de los plaguicidas.

<http://www.elergonomista.com/saludpublica/toxicidad.htm>

MALATION. Datos de identificación.

<http://www.ine.gob.mx/dgicurg/plaguicidas/pdf/malation.pdf>

Métodos de determinación de compuestos orgánicos.

[http://www.juntadeandalucia.es/medioambiente/web/Bloques\\_Tematicos/Estado\\_Y\\_Calidad\\_De\\_Los\\_Recursos\\_Naturales/Suelo/Contaminacion\\_pdf/Metodos.pdf](http://www.juntadeandalucia.es/medioambiente/web/Bloques_Tematicos/Estado_Y_Calidad_De_Los_Recursos_Naturales/Suelo/Contaminacion_pdf/Metodos.pdf)

BANCO DE LA REPUBLICA. Información jurídica documental.

<http://juriscol.banrep.gov.co:8080/home.html>

RAP-AL, Clasificación de los plaguicidas según su capacidad de producir daño.

[http://www.rap-al.org/index.php?seccion=4&f=clasificacion\\_plaguicidas.php](http://www.rap-al.org/index.php?seccion=4&f=clasificacion_plaguicidas.php)

RED LATINOAMERICANA DE QUIMICA. Cromatografía de gases.

<http://www.relaq.mx/RLQ/tutoriales/cromatografia/Gas.htm>

PROFICOL. Insecticida Malathion 57% EC.

[http://www.proficol.com.co/productos/pdf/INSECTICIDAS/MALATHION%2057.p  
df](http://www.proficol.com.co/productos/pdf/INSECTICIDAS/MALATHION%2057.pdf)

JORGE SARMIENTO. Los plaguicidas, propiedades y clasificación.

[http://www.senasa.gob.pe/servicios/intranet/capacitacion/cursos/curso\\_nacional  
\\_semilla/plaguicidas/1.pdf](http://www.senasa.gob.pe/servicios/intranet/capacitacion/cursos/curso_nacional_semilla/plaguicidas/1.pdf)

***ANEXOS***

**Anexo N°2.** Método 1311 de la EPA. (Medio Magnético).

**Anexo N°4.** Método 3510C de la EPA. (Medio Magnético).

**Anexo N°6.** Muestra de cálculo de resultados. (Medio Magnético).

**Anexo N°9.** Método 8141<sup>a</sup>. (Medio Magnético).

***ANEXO N°1***

***HOJA DE SEGURIDAD  
PLAGUICIDA MALATHION***

HOJA DE SEGURIDAD MALATHION	
1. Identificación	
Nombre	Malathion 57% C.E. Insecticida.
Ingrediente Activo	Malathion = S-1, 2-Di (Etoxycarbonil) Etil 0,0- Dimetil Fósforodiitioato.
Formula Molecular	C10 H19 O6 Ps2
Peso Molecular	330.36
Familia Química	Organofosforados
Formulación	Malathion Técnico 100%.....57%
	Ingredientes Aditivos .....43 %
	-----
	100%
Categoría Toxicológica III.	
2. Propiedades Físicas Y Químicas	
Apariencia Y Olor	Líquido Color Ámbar Claro, Con Olor A Xilol.
Densidad 20oc	1,07 Gr/MI.
% Volátil (Por Volumen)	30
Solubilidad En H2o	145 Ppm A Temperatura Ambiente
Punto De Ebullición	Alrededor De 156 - 157 Oc.
Presión De Vapor	6,72 Mm Hg. 21oc.
Densidad De Vapor	3,7 (Aire = 1)
Ph	Neutro, Con Tendencia A Acidificarse
3. Riesgo De Incendio Y Explosión	
Punto De Inflamación	32.2oc (Copa Cerrada).
Limites De Inflamabilidad	Inferior : 1%
	Superior; 6% Por Volumen.
Medios De Extinción	Espuma Polvo Químico Seco, Co2
Táctica De Control De Fuego	Usar Equipo De Protección Auto-Contenido Y Ropa Especial Para Bomberos, Atacar El Fuego Con El Viento A Favor.
	Usar Equipo De Protección Auto-Contenido Y Ropa Especial Para Bomberos, Atacar El Fuego Con El Viento A Favor.
	Por Ningún Motivo Inhalar Los Vapores Y Humos Que Se Generan.
	Construya Diques Alrededor Del Área Del Incendio Para Prevenir La Contaminación Por Regueros Del Pesticida.

	Retire Del Área Al Personal Que No Sea Absolutamente Necesario Para El Control De La Emergencia.
	Alerte A Las Autoridades Y Al Servicio Médico Del Sector.
<b>4. Reactividad</b>	
<i>Estabilidad</i>	Estable.
<i>Condiciones A Evitar</i>	Contacto Con El Hierro Y Productos Fuertes/Alcalinos Y Oxidantes, Almacenaje A Temperaturas Superiores A 48oc.
<i>Descomposición</i>	La Descomposición Por Efectos Térmicos Puede Producir: Isomalathion, Sulfuro De Hidrógeno, Mercaptanos, Oxido De Carbón, Azufre Y Fósforo.
<i>Polimerización</i>	No Ocurre
<b>5. Toxicidad</b>	
<i>Oral DI50</i>	En Ratas Machos DI50 : 2372 Mg/Kg.
	En Ratas Hembras DI50 : 1915 Mg/Kg.
	Lo Anterior Indica Que Este Producto Es De Muy Baja Toxicidad Oral.
<i>Dérmica DI50</i>	En Conejos Machos DI50: : 1659 Mg/Kg.
	En Conejos Hembras DI50 : Mayor Que 2170 Mg/Kg.
<i>Contacto Con Los Ojos</i>	Causa Irritación (Experimentación Con Conejos).
<i>Inhalación</i>	Puede Producir Depresión De La Colinesterasa Y/O Irritación Del Sistema Respiratorio.
<b>6. Procedimientos De Emergencia Y Primeros Auxilios</b>	
<i>Contacto Con La Piel</i>	Quítese La Ropa Contaminada Y Lávese Con Abundante Agua Y Jabón.
	Si Presenta Irritación Busque Atención Médica.
<i>Contacto Con Los Ojos</i>	Lávelos Inmediatamente Con Agua Corriente Durante 15 Minutos.
<i>Ingestión</i>	Busque Atención Médica De Inmediato ; No Induzca El Vómito, Porque Puede Incrementar El Riesgo De Neumonía Por Productos Químicos O Edema Pulmonar Causado Por La Aspiración De Hidrocarburos Aromáticos Presentes En La Formulación. El Vómito Sólo Puede Ser Inducido Bajo La Supervisión De Un Médico.
<i>Inhalación</i>	Suministre Respiración Artificial Si La Persona Presenta Dificultad Respiratoria.
	Oxígeno Si Presenta Dificultad Respiratoria Obtenga Atención Médica.
<i>Síntomas De Envenenamiento</i>	Dolor De Cabeza, Presión En El Pecho, Visión Borrosa, No Reacción De Las Pupilas, Salivación , Sudoración, Náuseas, Vómito, Diarrea Y Dolores Abdominales.

	El Antídoto Es La Atropina Intramuscular O Intravenosa, Dependiendo De La Severidad Del Envenenamiento, 2 A 4 Mg. Cada 10 Minutos Hasta Obtener Una Atropinización Total Que Se Determina Por Dilatación De La Pupila, Resecamiento De La Piel Y Taquicardia; 20 A 30 Mg. Más Pueden Ser Requeridos Durante Las Primeras 24 Horas Siguiendo Al Envenenamiento. Nunca Suministre Tranquilizantes Derivados De La Morfina. 2 Pam Puede Ser Efectiva Administrada Junto Con La Atropina De Acuerdo A Las Instrucciones
Derrames	Recoja Inmediatamente Absorbiendo Con Arcilla O Soda Y Usando Equipo De Protección Adecuado.
	Guarde Los Materiales En Un Recipiente Bien Cerrado Para Su Posterior Disposición.
	Elimine Cualquier Fuente De Ignición.
	Trate El Área Contaminada Con Un Blanqueador Fuerte A Base De Cloro Dejándolo Actuar Durante Unos Quince Minutos Y Enjuagando Con Suficiente Agua.
<b>7. Precauciones Especiales</b>	
Durante El Proceso De Manufactura Siga Todas Las Normas De Higiene Industrial Que Eviten La Sobre-Exposición Al Producto; Use Monogafas, Guantes, Mascara Respiratoria Con Cartuchos Para Vapores Orgánicos, Botas Y Elimine Cualquier Fuente De Ignición.	
Almacene En Un Sitio Seguro, Bien Ventilado Fuera Del Alcance De Los Niños O De Personas No Capacitadas Para El Manejo De Sustancias Peligrosas.	
Evite La Contaminación De Ríos, Lagos, Alimentos Y Otros Insumos Agrícolas.	
Esta Información Se Da Con Base En Las Recomendaciones Dadas Por Las Buenas Prácticas De Manufactura Y Manipuleo De Estos Productos, Consignados En La Literatura Disponible Al Respecto; Va Dirigida A Personal Especializado Y No Comprometen Para Nada Al Fabricante.	



### ***ANEXO N°3***

***VALIDACIÓN DEL MÉTODO INSTRUMENTAL PARA LA  
DETERMINACIÓN DE CLORPÍRIFOS Y MALATIÓN MEDIANTE  
CROMATOGRFÍA DE GASES DE ALTA RESOLUCIÓN CON  
DETECCIÓN POR IONIZACIÓN DE LLAMA.***

**DESARROLLO Y VALIDACION DE UN METODO INSTRUMENTAL PARA LA  
DETERMINACIÓN DE CLORPÍRIFOS Y MALATIÓN MEDIANTE CROMATOGRAFIA DE  
GASES DE ALTA RESOLUCIÓN CON DETECCION POR IONIZACION DE LLAMA.**

**CONTRATISTA:  
BAUDILIO ACEVEDO BUITRAGO  
QUIMICO MSc**

**ABRIL DE 2008**

**UNIVERSIDAD DE LA SALLE  
LABORATORIO DE INGENIERIA AMBIENTAL Y SANITARIA**

# DESARROLLO Y VALIDACION DE UN METODO INSTRUMENTAL PARA LA DETERMINACIÓN DE CLORPÍRIFOS Y MALATIÓN MEDIANTE CROMATOGRAFIA DE GASES DE ALTA RESOLUCIÓN CON DETECCION POR IONIZACION DE LLAMA.

INDICE	Página
1. FUNDAMENTO TEÓRICO	1
2. METODOLOGÍA	4
2.1. DESARROLLO DE UN MÉTODO CROMATOGRÁFICO PARA DETERMINACIÓN DE CLORPÍRIFOS Y MALATIÓN A PARTIR DE UNA MEZCLA DE 15 PLAGUICIDAS ORGANOFOSFORADOS.	4
2.2. VALIDACION DEL METODO DE ANALISIS INSTRUMENTAL PARA LA DETERMINACION DE CLORPÍRIFOS Y MALATIÓN POR CROMATOGRAFIA DE GASES Y DETECCION MEDIANTE IONIZACION POR LLAMA (GC-FID).	5
2.2.1. Selectividad o especificidad.	5
2.2.2. Identificación del pico-respuesta del clorpirifos.	5
2.2.3. Identificación del pico-respuesta del malatión..	6
2.2.4. Linealidad.	6
▪ Rango lineal:	
▪ Pendiente	
▪ Intercepto	
▪ Coeficiente de regresión	
2.2.5. Precisión.	8
2.2.6. Sensibilidad.	8
3. RESULTADOS	
3.1. DESARROLLO DE UN MÉTODO CROMATOGRÁFICO PARA DETERMINACIÓN DE CLORPÍRIFOS Y MALATIÓN A PARTIR DE UNA MEZCLA DE 15 PLAGUICIDAS ORGANOFOSFORADOS .	9
3.2. VALIDACION DEL METODO DE ANALISIS INSTRUMENTAL PARA LA DETERMINACION DE CLORPÍRIFOS POR CROMATOGRAFIA DE GASES Y DETECCION MEDIANTE IONIZACION POR LLAMA (GC-FID)	11
3.2.1. Selectividad o especificidad	11

	<b>Página</b>
3.2.2. Identificación del pico-respuesta del clorpirifos	12
3.2.3. Identificación del pico-respuesta de malatión	14
3.2.4. Linealidad	15
3.2.5. Parámetros de linealidad para malatión (pico nº 8).	20
-Cálculo de la pendiente para malatión ( $Y = a X + b$ )	
-Cálculo del intercepto para malatión	
-Cálculo del coeficiente de regresión	
-Test de student para r	
-Límites de confianza para la pendiente.	
-Límites de confianza para el intercepto	
3.2.6. Precisión instrumental para determinación de malatión.	23
3.2.7. Sensibilidad del método cromatográfico para determinación de malatión.	23
-Cálculo del límite de detección del método instrumental de análisis	
-Cálculo del límite de cuantificación del método instrumental de análisis	
3.2.8. Parámetros de linealidad para clorpirifos (pico nº 9)	25
-Cálculo de la pendiente para clorpirifos ( $Y = a X + b$ )	
-Cálculo del intercepto para clorpirifos	
-Cálculo del coeficiente de regresión	
-Test de student para r	
-Límites de confianza para la pendiente.	
-Límites de confianza para el intercepto	
3.2.9. Precisión instrumental para determinación de clorpirifos	28
3.2.10. Sensibilidad del método cromatográfico para determinación de clorpirifos.	28
-Cálculo del límite de detección del método instrumental de análisis	
-Cálculo del límite de cuantificación del método instrumental de análisis	
4. CONCLUSIONES.	29
5. BIBLIOGRAFIA	30

# **DESARROLLO Y VALIDACIÓN DE UN MÉTODO INSTRUMENTAL PARA LA DETERMINACIÓN DE CLORPÍRIFOS Y MALATIÓN MEDIANTE CROMATOGRAFÍA DE GASES DE ALTA RESOLUCIÓN CON DETECCIÓN POR IONIZACIÓN DE LLAMA.**

## **1. FUNDAMENTO TEÓRICO**

Al inicio de cualquier ensayo para determinaciones analíticas, un laboratorio de análisis y ensayos debe cumplir con consideraciones técnicas que demuestran la capacidad para el desarrollo del trabajo, así se debe tener definido un método o procedimiento que describa el ámbito de aplicación, los pasos a seguir en la realización del trabajo, el proceso de calibración, los patrones y materiales de referencia, el tratamiento de los datos obtenidos, los cálculos y la expresión de los resultados, los criterios de aceptación ó rechazo y la incertidumbre de la medida.

En principio, el proceso de realización de ensayos y calibraciones para determinación y análisis de un analito de interés incluye la selección de métodos y esta es responsabilidad y decisión del propio laboratorio. En este aspecto se pueden o usar métodos normalizados y reconocidos pero adecuados a las condiciones del laboratorio para lo que se deberá realizar una revalidación del método o se pueden desarrollar métodos propios que deben ser validados para demostrar la confiabilidad de los ensayos.

La validación de métodos de análisis esta enmarcada por las posibilidades técnicas al alcance del laboratorio, como disponibilidad de patrones de referencia confiables, equipos de medición con detectores de alta sensibilidad u otros que se constituyan como dificultades técnicas para la realización del análisis y la exactitud requerida, que puedan afectar la calidad y la fiabilidad de los resultados de los diferentes ensayos. Por lo tanto es requisito indispensable que exista un procedimiento comprensible, fácil de implementar y validado, en donde se consideren factores como la respuesta lineal frente a diferentes concentraciones de analito, la exactitud, la selectividad y la precisión, con el propósito de que la dispersión y variabilidad de los resultados sea la mas baja posible y de esta manera la incertidumbre del método este bajo control frente a resultados obtenidos en análisis realizados bajo las mismas condiciones por otros laboratorios.

A continuación se dan algunas definiciones importantes y que deben tenerse en cuenta en el proceso de validación de un método de análisis:

## **DESARROLLO DE MÉTODOS PARA ANÁLISIS**

El desarrollo de un método de análisis consiste en realizar los pasos necesarios de ajuste de cada una de las variables involucradas durante el tratamiento de la muestra así como de los parámetros instrumentales para la determinación del analito en estudio.

### **CALIBRACIÓN**

La calibración es un conjunto de operaciones que establecen, bajo condiciones específicas, la relación entre las magnitudes que indique un instrumento de medición o un sistema de medición, o valores representados por una medida materializada o por un material de referencia y los valores correspondientes determinados por medio de los patrones.

### **VALIDACIÓN DE MÉTODOS**

La validación es la confirmación mediante el suministro de una evidencia objetiva que se han cumplido los requisitos para una utilización a aplicación específica prevista. El objetivo de la validación de un método es confirmar y documentar que los resultados producidos por una técnica analítica determinada en análisis de productos específicos son confiables. De esta manera en un proceso de validación deben considerarse los parámetros de selectividad, linealidad, precisión, exactitud, sensibilidad y robustez.

### **SELECTIVIDAD O ESPECIFICIDAD**

Este parámetro se refiere a la propiedad del método para producir una señal o respuesta medible debida solo a la presencia del analito de interés y libre de interferencias de otros componentes presentes o generados en la matriz de estudio.

### **LINEALIDAD**

En un método analítico la linealidad se refiere a la proporcionalidad entre la concentración de analito y su respuesta en un sistema de detección definido. Junto a este parámetro se determina también el rango lineal o intervalo de concentraciones máxima y mínima dentro de las cuales se prueba que el método es lineal.

### **PRECISIÓN**

La precisión cuantifica la dispersión de las medidas alrededor del punto medio o valor central y corresponde al grado de concordancia entre los diferentes ensayos individuales cuando el método por validar se aplica repetidamente con alícuotas provenientes de una muestra homogénea.

Matemáticamente la precisión se expresa como la desviación estándar ( $\sigma$ ) o más comúnmente como el coeficiente de variación (CV), también conocido como la desviación estándar relativa (DER):

$$\sigma = ((\sum X_i - X_{\text{prom}}) / (n - 1))^{1/2}$$

$$X_{\text{prom.}} = \sum X_i / n$$

$$\text{DER} = \sigma \cdot 100 / X_{\text{prom}}$$

### **INCERTIDUMBRE DE MEDICIÓN**

Parámetro asociado con el resultado de una medición que caracteriza la dispersión de los valores que en forma razonable se le podrían atribuir a la magnitud por medir.

### **REPETIBILIDAD**

Cercanía entre los resultados de mediciones sucesivas de la misma magnitud por medir, efectuadas en las mismas condiciones de medición, las cuales incluyen el mismo procedimiento, la misma muestra, el mismo observador, el mismo instrumento de medición operado bajo las mismas condiciones establecidas para el análisis, el mismo lugar y la repetición del análisis dentro de un corto periodo de tiempo.

### **REPRODUCIBILIDAD**

Cercanía entre los resultados de mediciones sucesivas de la misma magnitud por medir, efectuadas bajo condiciones de medición diferentes, las cuales incluyen entre otras; el principio de medición, el método de medición, el observador, el instrumento de medición, el patrón de referencia, el lugar, las condiciones de uso y el tiempo.

## **2. METODOLOGÍA**

### **2.1. DESARROLLO DE UN MÉTODO CROMATOGRÁFICO PARA DETERMINACIÓN DE CLORPÍRIFOS Y MALATIÓN A PARTIR DE UNA MEZCLA DE 15 PLAGUICIDAS ORGANOFOSFORADOS .**

El desarrollo del método cromatográfico para determinación y análisis de clorpirifos y malatión se realizó en un equipo de cromatografía de gases Trace GC Ultra, marca Thermo finnigan con detector de ionización de llama (GC-FID). Este equipo tiene adaptado un autoinyector AI 3000 marca Thermo con una jeringa de inyección marca Hamilton de 10 µL de capacidad. La columna utilizada para la separación cromatográfica fue una columna capilar para propósitos generales marca Restek y codificada como Rtx - 5 con una fase de 5% difenil – 95% dimetilpolisiloxano de 30 m de longitud, 0.32 mm de diámetro interno y 0.50 µm de diámetro de fase, esta columna es estable hasta una temperatura de 340 °C.

A partir de una solución de una mezcla de 15 plaguicidas organofosforados (estándar de referencia marca Dr. Ehrenstorfer) con una concentración de 200 mg / mL de cada uno de los compuestos presentes, en la que están incluidos el clorpirifos y el malatión, se realizaron los análisis para determinar las condiciones optimas de operación del equipo de cromatografía (flujo de gas transportador y temperaturas para el inyector, el detector y el horno) para la separación y cuantificación de los plaguicidas basados en los parámetros cromatográficos tales como el factor de capacidad, la selectividad y la resolución. Bajo estas condiciones se realizaron 3 repeticiones del análisis de la mezcla y se determino la repetibilidad de las señales producidas por los diferentes plaguicidas en la solución y sus tiempos de retención definiendo para cada caso tiempo de inicio y final de la elución de cada pico cromatográfico.

En la solución de la mezcla se encontraban presentes los plaguicidas organofosforados: Etil-bromofos, Metil-bromofos, Clorfenvinfos, Clorpirifos, Diazinon, Diclorvos, Dimetoato, Disulfoton, Ethion, Fention, Malatión, Mevinfos, Etil-paraoxon, Etil-paration, Metil-paration



## **2.2. VALIDACION DEL METODO DE ANALISIS INSTRUMENTAL PARA LA DETERMINACION DE CLORPÍRIFOS Y MALATIÓN POR CROMATOGRAFIA DE GASES Y DETECCION MEDIANTE IONIZACION POR LLAMA.**

Para el proceso de validación del método instrumental de análisis de los plaguicidas organofosforados presentes en la solución de la mezcla se determinaron los siguientes parámetros:

**2.2.1. Selectividad o especificidad:** el estudio en este caso consistió en la determinación de pureza y homogeneidad de los picos cromatográficos como respuesta a cada analito y su asociación a tres diferentes concentraciones (200, 100 y 75 mg/L). Las soluciones de 100 y 75 mg/mL fueron preparadas a partir de la disolución del estándar de referencia de 200 mg/L y los volúmenes de solución estándar y de solvente necesarios para la preparación de las soluciones de trabajo se calcularon a partir de la ecuación:

$$C_1 V_1 = C_2 V_2$$

V1= volumen inicial, C1 = concentración inicial, V2\*= volumen final y C2 = concentración final.

En estos ensayos se tomó como referencia el tiempo de retención al cual se presentó la respuesta generada por los compuestos puros y su comparación con el cromatograma al inyectar en el sistema de análisis solución sin muestra (blanco: diclorometano). Este análisis se realizó mediante la inyección de 2 uL de solución de la mezcla de plaguicidas, bajo condiciones cromatográficas de temperatura del horno, temperatura del inyector, temperatura del detector y flujo del gas transportador, establecidas para las mejores condiciones de separación de los compuestos en el menor tiempo de análisis posible.

### **2.2.2. Identificación del pico-respuesta del clorpirifos.**

A partir de un estándar de referencia de clorpirifos de 1000 mg / mL marca Restek se prepararon soluciones de trabajo de clorpirifos en diclorometano de una concentración de 200 y 75 mg/mL, de tal manera que para dos niveles de concentración, bajo las condiciones definidas de análisis para la separación de la mezcla de plaguicidas organofosforados se identificó el compuesto mediante la determinación del tiempo de retención correspondiente. Se realizaron 3 repeticiones del análisis de las soluciones preparadas y se determinó la repetibilidad de la señal producida por el clorpirifos y el tiempo de retención del pico cromatográfico correspondiente a este compuesto.

### **2.2.3. Identificación del pico-respuesta del malatión.**

A partir de un plaguicida comercial cuyo ingrediente activo es Malatión al 57 % se realizó un proceso de extracción líquido - líquido con solvente orgánico (acetona). Teniendo en cuenta una base de cálculo cuya recuperación teórica desde la matriz original (plaguicida comercial) al solvente orgánico fuese del 100%, se prepararon soluciones de trabajo de Malatión en diclorometano de una concentración de 500 y 200 mg / L, de tal manera que para dos niveles de concentración bajo las condiciones definidas de análisis para la separación de la mezcla de plaguicidas organofosforados se identificó el compuesto mediante la determinación del tiempo de retención correspondiente. Se realizaron 3 repeticiones del análisis de las soluciones preparadas y se determinó la repetibilidad de la señal producida por el malatión y el tiempo de retención del pico cromatográfico correspondiente a este compuesto.

### **2.2.4. Linealidad:**

- **Rango lineal:**
- **Pendiente**
- **Intercepto**
- **Coefficiente de regresión**

Se determinaron y evaluaron las respuestas de los analitos en el sistema de detección a niveles de baja y de alta concentración y de esta manera se fijaron como concentraciones de trabajo para la curva de calibración de la mezcla de plaguicidas organofosforados soluciones de 200, 150, 125, 100 y 75 mg/L. Las soluciones de 150, 125, 100 y 75 mg/L fueron preparadas a partir de la disolución de un estándar de referencia de 200 mg / L.

Las soluciones de trabajo fueron inyectadas (8 replicas de cada una) en el sistema cromatográfico bajo condiciones determinadas anteriormente 2.2.1. Posteriormente, con ayuda del programa Xcalibur el cual es un software de soporte para manejo del equipo de cromatografía y plataforma para la adquisición, análisis y manejo de datos, se realizó el proceso de integración del área bajo cada pico cromatográfico de cada cromatograma obtenido en los análisis realizados a cada concentración de trabajo.

Con los datos colectados se determino sobre los puntos individuales sin promediar por el método de los mínimos cuadrados la ecuación de trabajo para la curva de calibración  $Y = a X + b$  de cada uno de los diferentes plaguicidas:

$$a = ((\sum X_i Y_i) - ((\sum X_i \sum Y_i) / n)) / (\sum X_i^2 - ((\sum X_i)^2 / n))$$

$$b = \sum Y_i - a \sum X_i / n$$

Siendo a y b los estimadores de la pendiente y la ordenada al origen respectivamente, n el número de mediciones,  $X_i$  la concentración e  $Y_i$  el valor medido (en unidades de área) en el ensayo i correspondiente. Para evaluar el ajuste al modelo lineal propuesto se determino el coeficiente de regresión lineal de la respuesta de cada plaguicida presente en la mezcla:

$$r = ((\sum X_i Y_i) - ((\sum X_i \sum Y_i) / n)) / ((\sum X_i^2 - ((\sum X_i)^2 / n)) (\sum Y_i^2 - ((\sum Y_i)^2 / n)))^{1/2}$$

Para cada plaguicida presente en la mezcla y analizado se realizó una prueba estadística (test de student), en la cual se calculo el valor de  $t_r$  con  $n - 2$  grados de libertad ( $n$  = numero de mediciones) y se comparo con el valor  $t$  tabulado para el nivel de confianza requerido. En este caso en la hipótesis nula se estableció una no correlación entre  $X$  y  $Y$  a un nivel de confianza establecido y la hipótesis alterna estableció la correlación entre los valores de  $X$  y  $Y$  a este mismo nivel de confianza. De esta manera, si el valor obtenido para  $t_r$  es mayor que el  $t_{\text{tabla}}$  se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alterna siendo la correlación lineal positiva.

$$t_r = |r| (n - 2)^{1/2} / (1 - r^2)^{1/2}$$

Los límites de confianza para el estimador de la pendiente (a) y el intercepto se calcularon en función de su varianza como:

$$\text{Limite de confianza de a: } LCa = a \pm t S_a$$

$$S_a = ((S^2_{xy} / (\sum X_i^2 - ((\sum X_i)^2 / n)))^{1/2}$$

$$S^2_{xy} = ((\sum Y_i^2) - (b \sum Y_i) - (a \sum X_i Y_i)) / (n-2)$$

$$\text{Limite de confianza de b: } LCb = b \pm t S_b$$

$$S_b = ((S_a^2) (\sum X_i^2 / n))^{1/2}$$

En donde;  $S_a$  = Varianza de la pendiente,  $S_b$  = varianza del intercepto,  $t$  = valor de  $t_{\text{tablas}}$  con  $n-2$  grados de libertad.

**2.2.5. Precisión:** la determinación de este parámetro se realizó sobre el sistema evaluando la dispersión de los resultados de cada compuesto presente en la solución, en unidades de área de ocho inyecciones para cada uno de los niveles de concentración de la curva de calibración. De esta manera se calculo el estimador de la desviación estándar ( $\sigma$ ) y la desviación estándar relativa (DER):

$$\sigma = ((\sum X_i - X_{prom}) / (n - 1))^{1/2}$$

$$X_{prom.} = \sum X_i / n$$

$$DER = \sigma \cdot 100 / X_{prom}$$

**2.2.6. Sensibilidad:** en este caso se realizaron 10 inyecciones de muestra blanco (diclorometano) y se midió la señal de fondo (relación señal ruido) mediante la integración de la respuesta producida en el tiempo de elución del pico cromatográfico determinado para el nivel de mayor concentración (200 mg / mL) para cada plaguicida. Posteriormente se determino el límite de detección y el límite de cuantificación de análisis instrumental de cada compuesto presente mediante las siguientes ecuaciones:

$$\text{Limite de detección} = (Y_{\text{blanco}} + 3 \sigma_{\text{blanco}}) / a$$

$$\text{Limite de cuantificación} = (Y_{\text{blanco}} + 10 \sigma_{\text{blanco}}) / a$$

### 3. RESULTADOS

#### 3.1. DESARROLLO DE UN MÉTODO CROMATOGRÁFICO PARA DETERMINACIÓN DE CLORPÍRIFOS Y MALATIÓN A PARTIR DE UNA MEZCLA DE 15 PLAGUICIDAS ORGANOFOSFORADOS.

Las condiciones cromatográficas seleccionadas para la determinación de clorpirifos y malatión mediante GC-FID, se seleccionaron con base en los parámetros cromatográficos establecidos para la separación de los compuestos presentes en la mezcla. Así las siguientes fueron las condiciones cromatográficas utilizadas para el análisis:

**Volumen de inyección:** 2.0  $\mu\text{L}$  (modo splitless)

**Temperatura del inyector:** 250 °C

**Temperatura del detector:** 280 °C

**Gas transportador:** Nitrógeno a un flujo constante de 0.8 mL / min.

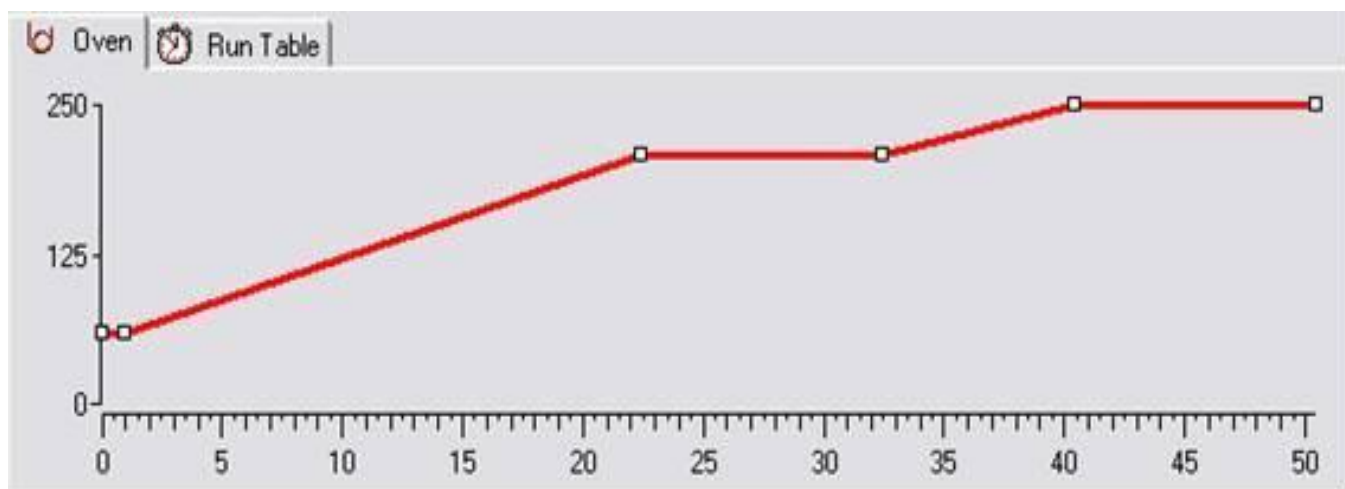
**Gas combustible:** Aire: 300 mL / min.

Hidrógeno: 30 mL/min

**Gas Make up:** Helio: 35 mL / min.

**Temperatura del horno:** inicio 60 °C durante 1 min. luego un gradiente de 7 °C/min. hasta 210 °C y una permanencia a esta temperatura de 10 min., se realiza nuevamente un gradiente de temperatura a 5 °C/min. hasta 250 °C con una permanencia a esta temperatura de 10 min. para un tiempo total de análisis de 40 min.

Figura N° 1. Programa de temperatura utilizado para la determinación de clorpirifos y malatión mediante GC-FID.



Bajo estas condiciones de análisis se obtuvo un cromatograma con 15 picos – señal (respuesta) correspondientes a los compuestos presentes en la mezcla y con valores de parámetros cromatográficos óptimos que indican su separación (Tabla N° 1, Fig. N° 2.).

Tabla N° 1. Parámetros cromatográficos determinados para la separación de una mezcla de 15 plaguicidas organofosforados mediante GC y detección con FID.

Pico N°	Tiempo de retención (min.)	Rango de tiempo de elución. Inicio y final de elución (min.)	Factor de capacidad (k)	Factor de separación ( $\alpha$ )	Resolución (R)
1	13.92	13,8733 -13,9555	4,40		
2	15.42	15,3667 -15,4550	4,98	1,132	1,85
3	17.26	17,1983 - 17,3033	5,69	1,143	2,04
4	23.32	23,2683 - 23,3617	8,04	1,413	11,81
5	23.60	23,5367 - 23,6250	8,15	1,014	0,84
6	25.36	25,2600 - 25,4067	8,83	1,084	2,44
7	25.84	25,7217 - 25,8867	9,02	1,021	0,95
8	27.00	26,8900 - 27,0480	9,47	1,050	10,74
9	27.64	27,4780 - 27,7050	9,71	1,026	5,92
10	27.78	27,7080 - 27,8330	9,77	1,006	0,28
11	28.79	28,6780 - 28,8370	10,16	1,040	2,00
12	29.34	29,5440 - 29,4150	10,37	1,021	2,35
13	30.25	30,1100 - 30,3117	10,72	1,034	3,74
14	31.76	31,6130 - 31,8300	11,31	1,055	11,98
15	37.40	37,3133 - 37,4367	13,50	1,193	13,33

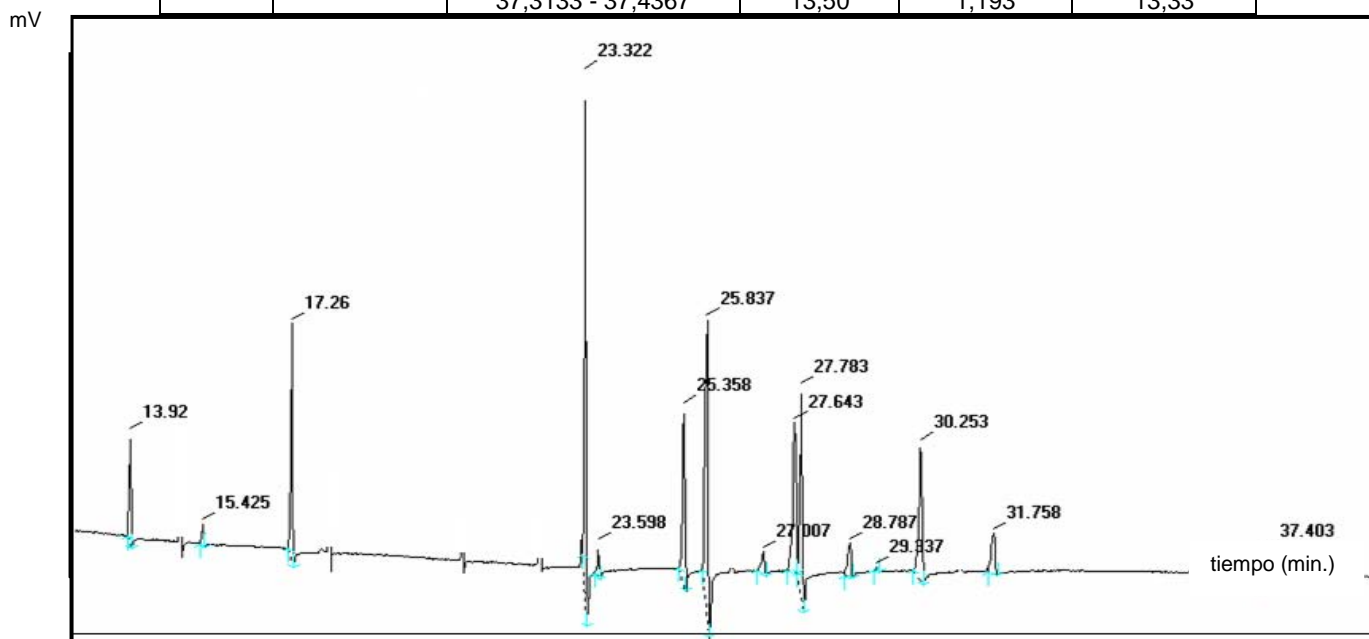


Fig. N° 2. Cromatograma obtenido mediante GC-FID para una mezcla de plaguicidas organofosforados.

### 3.2. VALIDACION DEL METODO DE ANALISIS INSTRUMENTAL PARA LA DETERMINACION DE CLORPÍRIFOS POR CROMATOGRAFIA DE GASES Y DETECCION MEDIANTE IONIZACION POR LLAMA.

Bajo las condiciones cromatográficas determinadas en el numeral 3.1. se realizaron los ensayos correspondientes para la validación instrumental de análisis de plaguicidas organofosforados mediante GC-FID.

#### 3.2.1. Selectividad o especificidad

Mediante el análisis cromatográfico de la inyección de 2 µL de las soluciones de trabajo de la mezcla de plaguicidas organofosforados en diclorometano y su correlación con los resultados con el blanco se confirmo que cada plaguicida produce una señal o respuesta a los tiempos de retención mostrados en la Tabla N° 1. Las diferentes repeticiones del análisis de la mezcla de plaguicidas a una misma concentración producen un cromatograma con un pico simétrico y homogéneo, sin problemas de coleo ni hombros. De igual manera se determino que existe una correlación positiva entre la concentración de cada plaguicida analizado y la respuesta del detector generada por cada compuesto, además a diferentes concentraciones se confirmo la conservación de la simetría y homogeneidad de la señal generada por el compuesto y la repetibilidad de los tiempos de retención (Tabla N° 2),. Así se puede concluir entonces que el método de análisis instrumental creado es selectivo y específico para los plaguicidas organofosforados en estudio.

Tabla N° 2. Respuesta del detector FID y repetibilidad del tiempo de retención a diferentes concentraciones en análisis realizados bajo las mismas condiciones cromatográficas de separación.

Concentración de plaguicidas organofosforados en diclorometano (mg / L)	Pico N°	Rango de tiempo de elución. Inicio y final de elución (min.)	Tiempo de retención (min.)	Área
200	1	13,87 -13,96	13.92	139621
	2	15,37 -15,46	15.42	32423
	3	17,20 - 17,30	17.26	355858
	4	23,27 - 23,36	23.32	800061
	5	23,54 - 23,62	23.60	46702
	6	25,26 - 25,41	25.36	384087
	7	25,72 - 25,89	25.84	785020
	8	26,89 - 27,04	27.00	63205
	9	27,48 - 27,70	27.64	455885

	10	27,71 - 27,83	27.78	443809
	11	28,68 - 28,84	28.79	86771
	12	29,24 - 29,42	29.34	48042
	13	30,11 - 30,31	30.25	384847
	14	31,61 - 31,83	31.76	141168
	15	37,31 - 37,44	37.40	60020
<b>100</b>	1	13,87 - 13,96	13.92	46414
	2	15,37 - 15,46	15.42	11505
	3	17,20 - 17,30	17.26	90846
	4	23,27 - 23,36	23.32	385637
	5	23,54 - 23,62	23.59	22152
	6	25,26 - 25,41	25.35	164005
	7	25,72 - 25,89	25.82	314031
	8	26,89 - 27,04	26.98	36352
	9	27,48 - 27,70	27.63	75727
	10	27,71 - 27,83	27.77	153540
	11	28,68 - 28,84	28.78	45516
	12	29,24 - 29,42	29.34	8462
	13	30,11 - 30,31	30.23	141840
	14	31,61 - 31,83	31.74	66372
	15	37,31 - 37,44	37.38	36040
<b>75</b>	1	13,87 - 13,96	13.92	27308
	2	15,37 - 15,46	15.43	15145
	3	17,20 - 17,30	17.25	56858
	4	23,27 - 23,36	23.33	260540
	5	23,54 - 23,62	23.59	17076
	6	25,26 - 25,41	25.35	109337
	7	25,72 - 25,89	25.82	212169
	8	26,89 - 27,04	26.98	19792
	9	27,48 - 27,70	27.63	26624
	10	27,71 - 27,83	27.77	119895
	11	28,68 - 28,84	28.78	26180
	12	29,24 - 29,42	29.34	5455
	13	30,11 - 30,31	30.23	67584
	14	31,61 - 31,83	31.74	33877
	15	37,31 - 37,44	37.38	19943

### 3.2.2. IDENTIFICACIÓN DEL PICO-RESPUESTA DEL CLORPÍRIFOS

Como se puede observar en la Figura N° 3, el clorpirifos genera una señal (pico cromatográfico) como respuesta a su detección para soluciones de trabajo de 200 y 75 mg / L en un tiempo de 27.61 min. y de 27.57 min. respectivamente. De esta manera se puede concluir que la señal – respuesta del clorpirifos en la mezcla de plaguicidas organofosforados corresponde a la



denominada como pico N° 9, el cual presenta una baja resolución con respecto al pico 10, pero esta es suficiente para permitir la cuantificación.

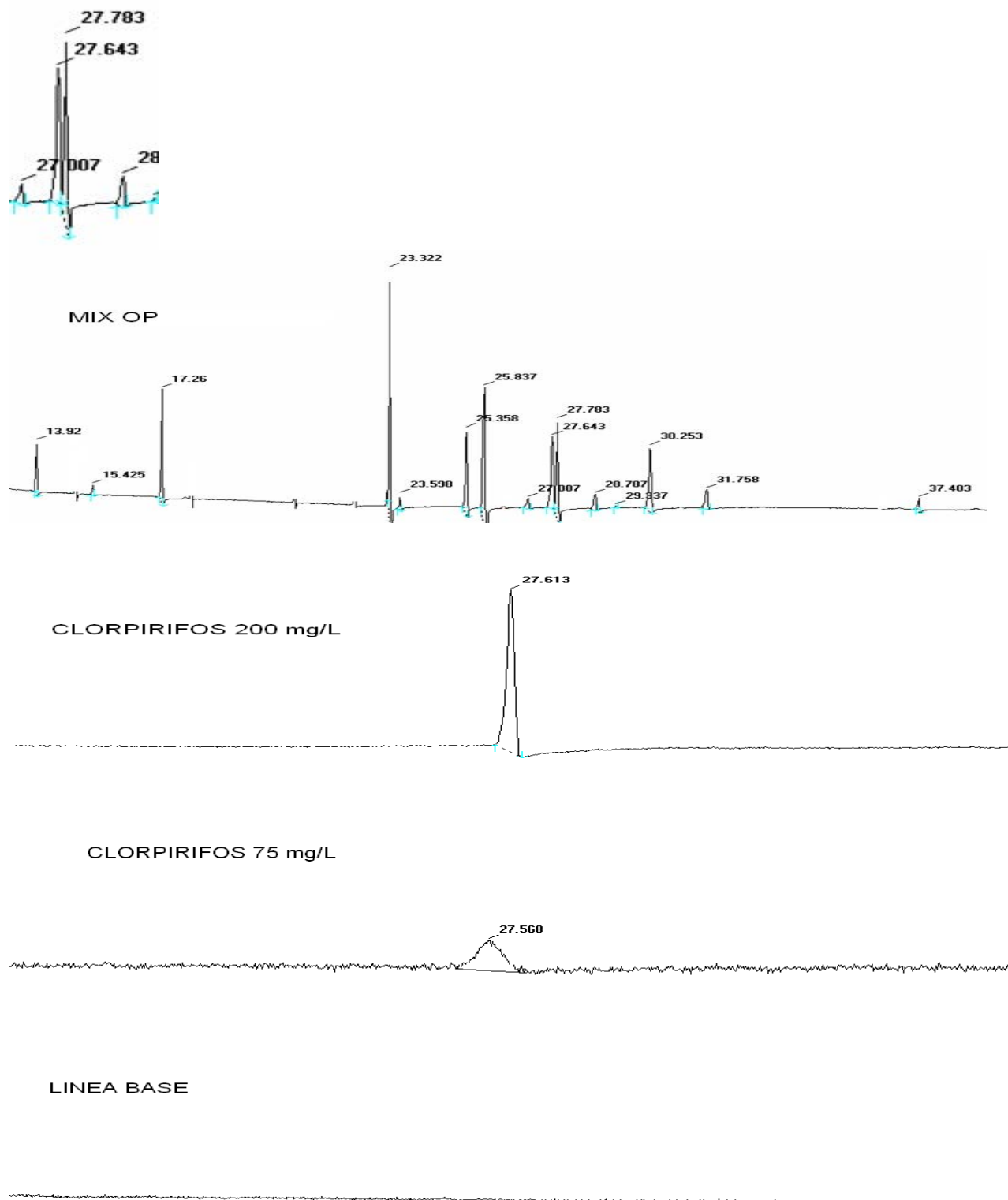


Fig. N° 3. cromatogramas obtenidos en la determinación de la respuesta generada por el plaguicida clorpirifos mediante GC-FID

### 3.2.3. IDENTIFICACIÓN DEL PICO-RESPUESTA DE MALATIÓN

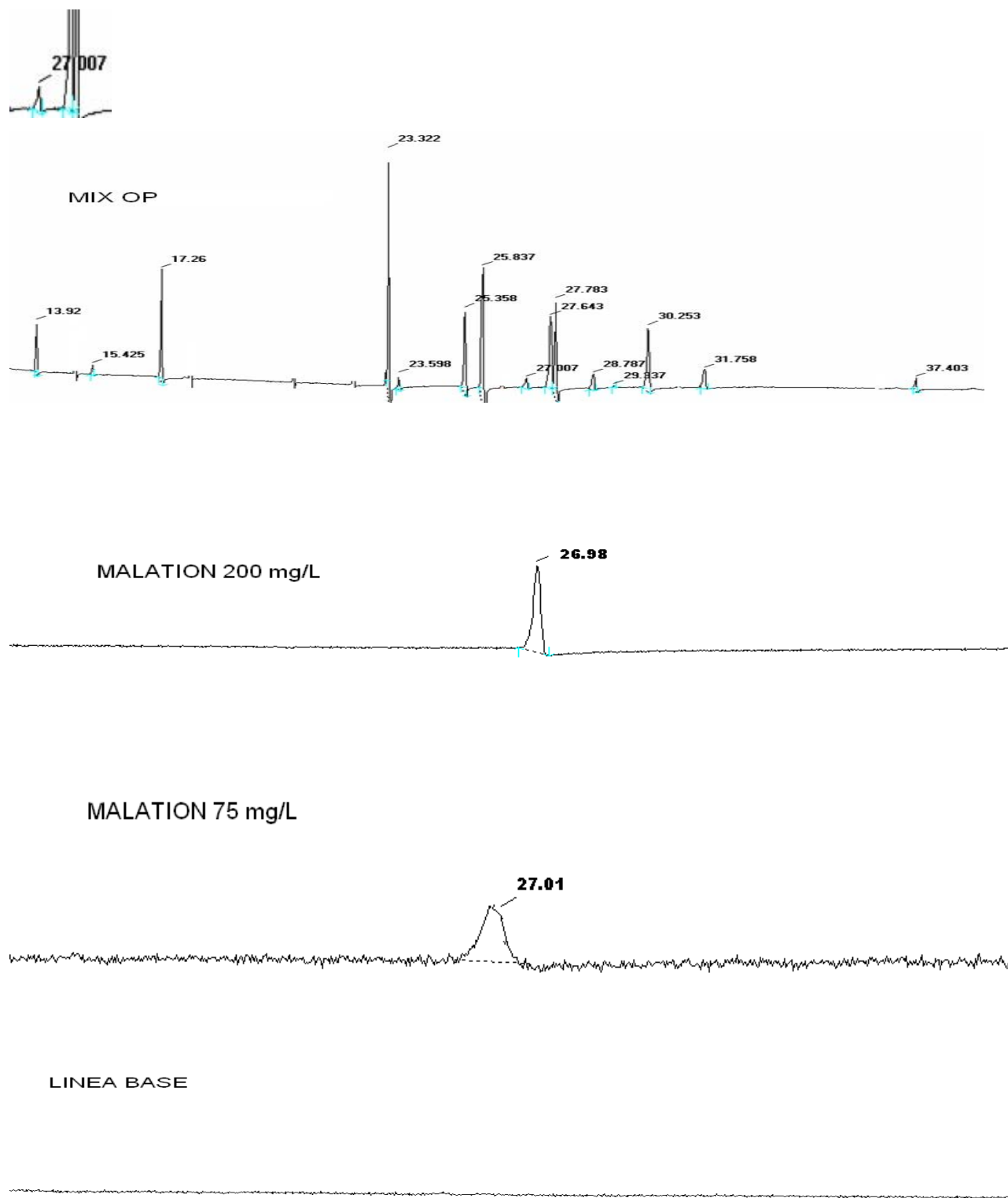


Fig. Nº 4. cromatogramas obtenidos en la determinación de la respuesta generada por el plaguicida malation mediante GC-FID

Como se puede observar en la anterior figura, el malatión genera una señal (pico cromatográfico) como respuesta a su detección para soluciones de trabajo de 200 y 75 mg / L en un tiempo de 26.98 min. y de 27.01 min. respectivamente. De esta manera se puede concluir que la señal – respuesta de malatión en la mezcla de plaguicidas organofosforados corresponde a la denominada como pico N° 8, el cual presenta una buena resolución con respecto a los picos o señales de los picos 7 y 9.

#### **3.2.4. Linealidad:**

Los resultados de los análisis cromatográficos realizados a las soluciones de trabajo para la determinación de la curva de calibración de cada plaguicida organofosforado en el rango lineal definido entre 75 mg / L hasta 200 mg / L, se observan a continuación en la Tabla N° 3:

Tabla Nº 3. Datos obtenidos en diferentes inyecciones (8 replicas) de soluciones de una mezcla de plaguicidas organofosforados para la construcción de sus respectivas curvas de calibración.

<b>Pico 1</b>									
<b>Concentración (mg/L)</b>	<b>tr (min.)</b>	<b>Area 1</b>	<b>Area 2</b>	<b>Area 3</b>	<b>Area 4</b>	<b>Area 5</b>	<b>Area 6</b>	<b>Area 7</b>	<b>Area 8</b>
<b>200</b>	13,92	139621	138527	146826	142341	141218	144641	139844	144223
<b>150</b>	13,91	114304	117451	122090	121133	123804	123029	129343	128828
<b>125</b>	13,91	91059	83730	86650	88993	88918	88354	86909	83253
<b>100</b>	13,93	46414	48287	46368	46596	47766	50016	52558	49958
<b>75</b>	13,92	27308	26238	26997	29196	28157	28924	30776	29858
<b>Pico 2</b>									
<b>Concentración (mg/L)</b>	<b>tr (min.)</b>	<b>Area 1</b>	<b>Area 2</b>	<b>Area 3</b>	<b>Area 4</b>	<b>Area 5</b>	<b>Area 6</b>	<b>Area 7</b>	<b>Area 8</b>
<b>200</b>	15,42	32423	29799	32039	31336	30967	31154	29167	30348
<b>150</b>	15,41	24745	25778	25634	26650	28169	26667	30163	26669
<b>125</b>	15,43	19011	18910	17382	17628	17367	17778	17658	16661
<b>100</b>	15,42	11505	11124	10510	10829	10670	12363	12733	12559
<b>75</b>	15,42	15145	13639	13494	15870	16705	15588	17036	14721
<b>Pico 3</b>									
<b>Concentración (mg/L)</b>	<b>tr (min.)</b>	<b>Area 1</b>	<b>Area 2</b>	<b>Area 3</b>	<b>Area 4</b>	<b>Area 5</b>	<b>Area 6</b>	<b>Area 7</b>	<b>Area 8</b>
<b>200</b>	17,26	355858	357342	367687	359410	352561	366783	356768	364374
<b>150</b>	17,24	289015	293394	294947	296487	304855	303848	334805	332505
<b>125</b>	17,25	231643	216214	217998	216791	222854	225895	220339	203831
<b>100</b>	17,26	90846	97574	96841	97466	101026	108717	111263	106332
<b>75</b>	17,26	56858	59202	57309	70161	70174	54306	65979	54267
<b>Pico 4</b>									
<b>Concentración (mg/L)</b>	<b>tr (min.)</b>	<b>Area 1</b>	<b>Area 2</b>	<b>Area 3</b>	<b>Area 4</b>	<b>Area 5</b>	<b>Area 6</b>	<b>Area 7</b>	<b>Area 8</b>
<b>200</b>	23,32	800061	801008	793023	793161	788713	800384	791866	791965
<b>150</b>	23,33	700915	711151	715232	714704	732680	724735	774596	782905
<b>125</b>	23,34	666477	607631	621275	627201	641163	643173	630537	631436
<b>100</b>	23,32	385637	386907	383209	387965	392952	401727	413299	403867
<b>75</b>	23,33	260540	270128	265226	279395	280820	278209	278942	286757

<b>Pico 5</b>									
<b>Concentración (mg/L)</b>	<b>tr (min.)</b>	<b>Area 1</b>	<b>Area 2</b>	<b>Area 3</b>	<b>Area 4</b>	<b>Area 5</b>	<b>Area 6</b>	<b>Area 7</b>	<b>Area 8</b>
<b>200</b>	23,59	46702	51637	55386	50216	46546	51780	43362	48902
<b>150</b>	23,59	48834	53002	51244	53894	51176	51254	54717	53572
<b>125</b>	23,59	38963	35500	38925	40079	40891	36932	36802	36081
<b>100</b>	23,59	22152	25470	24775	24316	23682	25783	25579	24943
<b>75</b>	23,59	17076	14247	15228	15799	17154	16404	19114	16315
<b>Pico 6</b>									
<b>Concentración (mg/L)</b>	<b>tr (min.)</b>	<b>Area 1</b>	<b>Area 2</b>	<b>Area 3</b>	<b>Area 4</b>	<b>Area 5</b>	<b>Area 6</b>	<b>Area 7</b>	<b>Area 8</b>
<b>200</b>	25,35	384087	387764	391011	383391	378404	378038	369385	383830
<b>150</b>	25,35	333036	340249	338670	339042	347030	354339	373670	360753
<b>125</b>	25,37	257032	247923	249596	253594	259403	263419	248491	248600
<b>100</b>	25,36	164005	169859	169221	170120	171637	175385	183847	174242
<b>75</b>	25,35	109337	111167	110681	117822	118793	120374	118343	123352
<b>Pico 7</b>									
<b>Concentración (mg/L)</b>	<b>tr (min.)</b>	<b>Area 1</b>	<b>Area 2</b>	<b>Area 3</b>	<b>Area 4</b>	<b>Area 5</b>	<b>Area 6</b>	<b>Area 7</b>	<b>Area 8</b>
<b>200</b>	25,82	785020	796050	795484	775898	755626	778903	757247	779265
<b>150</b>	25,82	648780	680288	664338	679379	688048	676051	718588	705374
<b>125</b>	25,82	549512	509968	529759	533954	539183	539397	526356	526223
<b>100</b>	25,82	314031	314602	318672	312915	320427	327756	336196	325083
<b>75</b>	25,82	212169	205749	208744	218578	219255	220773	221775	227934
<b>Malatión</b>									
<b>Concentración (mg/L)</b>	<b>tr (min.)</b>	<b>Area 1</b>	<b>Area 2</b>	<b>Area 3</b>	<b>Area 4</b>	<b>Area 5</b>	<b>Area 6</b>	<b>Area 7</b>	<b>Area 8</b>
<b>200</b>	26,98	63205	68927	69414	56010	46978	45723	60927	58739
<b>150</b>	26,98	51267	54581	51284	58864	58542	51516	64083	55817
<b>125</b>	26,99	49588	48381	43290	45901	50785	54814	47930	46484
<b>100</b>	27,00	36352	35189	34791	35433	35309	32368	36136	35148
<b>75</b>	26,98	19792	21728	21417	23517	23584	25800	26576	24906

<b>Clorpirifos</b>									
<b>Concentración (mg/L)</b>	<b>tr (min.)</b>	<b>Area 1</b>	<b>Area 2</b>	<b>Area 3</b>	<b>Area 4</b>	<b>Area 5</b>	<b>Area 6</b>	<b>Area 7</b>	<b>Area 8</b>
<b>200</b>	27,62	455885	464598	451253	383624	301146	327728	305800	309967
<b>150</b>	27,63	345600	345286	341678	355694	316945	319436	345221	336970
<b>125</b>	27,63	253649	208898	202605	241724	246427	241284	240852	187728
<b>100</b>	27,65	75727	89877	85671	86480	90136	93725	103615	93486
<b>75</b>	27,58	26624	28508	31148	32019	31159	36987	37348	40932
<b>Pico 10</b>									
<b>Concentración (mg/L)</b>	<b>tr (min.)</b>	<b>Area 1</b>	<b>Area 2</b>	<b>Area 3</b>	<b>Area 4</b>	<b>Area 5</b>	<b>Area 6</b>	<b>Area 7</b>	<b>Area 8</b>
<b>200</b>	27,77	443809	456605	460258	442912	414046	440773	420435	427440
<b>150</b>	27,76	360071	358773	358444	373233	365385	375835	407212	399042
<b>125</b>	27,78	287877	250122	256472	278075	290088	281817	276724	253667
<b>100</b>	27,76	153540	157593	154048	154164	158549	157091	167344	160748
<b>75</b>	27,77	119895	116367	119507	117474	122174	121027	118491	118580
<b>Pico 11</b>									
<b>Concentración (mg/L)</b>	<b>tr (min.)</b>	<b>Area 1</b>	<b>Area 2</b>	<b>Area 3</b>	<b>Area 4</b>	<b>Area 5</b>	<b>Area 6</b>	<b>Area 7</b>	<b>Area 8</b>
<b>200</b>	28,78	86771	99554	94247	79718	74467	75158	77606	81602
<b>150</b>	28,80	85948	83491	77045	77604	76195	74802	80649	80719
<b>125</b>	28,79	73311	52586	54701	67618	71926	69358	63965	57652
<b>100</b>	28,79	45516	44193	45127	43855	42454	46951	45786	50323
<b>75</b>	28,78	26180	27052	24746	27033	28987	28270	31348	31146
<b>Pico 12</b>									
<b>Concentración (mg/L)</b>	<b>tr (min.)</b>	<b>Area 1</b>	<b>Area 2</b>	<b>Area 3</b>	<b>Area 4</b>	<b>Area 5</b>	<b>Area 6</b>	<b>Area 7</b>	<b>Area 8</b>
<b>200</b>	29,34	48042	34200	13623		12597	10876	14246	12103
<b>150</b>	29,36	14937	14795	16024	15298	14027	18381	15555	17658
<b>125</b>	29,36	12003	7516	11340	12782	11141	11157	11590	13396
<b>100</b>	29,33	8462	10752	6750	6471	7977	8611	8868	6632
<b>75</b>	29,34	5455	5895	3696	7781	4645	4822	4285	6545

<b>Pico 13</b>									
<b>Concentración (mg/L)</b>	<b>tr (min.)</b>	<b>Area 1</b>	<b>Area 2</b>	<b>Area 3</b>	<b>Area 4</b>	<b>Area 5</b>	<b>Area 6</b>	<b>Area 7</b>	<b>Area 8</b>
<b>200</b>	30,23	384847	416648	386940	350148	286488	286574	289624	287825
<b>150</b>	30,25	352202	350762	344969	329345	282233	278158	290998	281515
<b>125</b>	30,21	284478	188776	190402	229205	276070	278033	262867	189678
<b>100</b>	30,23	141840	143811	141106	135933	149581	149879	160690	15674
<b>75</b>	30,22	67584	71943	72772	76604	79928	79827	85083	84135
<b>Pico 14</b>									
<b>Concentración (mg/L)</b>	<b>tr (min.)</b>	<b>Area 1</b>	<b>Area 2</b>	<b>Area 3</b>	<b>Area 4</b>	<b>Area 5</b>	<b>Area 6</b>	<b>Area 7</b>	<b>Area 8</b>
<b>200</b>	31,75	141168	157384	150249	135502	113244	125036	126867	114576
<b>150</b>	31,74	144228	144940	138494	132355	120955	126555	127130	123384
<b>125</b>	31,73	123600	86127	89200	105449	115559	115029	110665	87014
<b>100</b>	31,74	66372	68175	71608	66789	68236	72056	723331	71895
<b>75</b>	31,73	33877	38427	39402	38443	44651	42461	45514	43166
<b>Pico 15</b>									
<b>Concentración (mg/L)</b>	<b>tr (min.)</b>	<b>Area 1</b>	<b>Area 2</b>	<b>Area 3</b>	<b>Area 4</b>	<b>Area 5</b>	<b>Area 6</b>	<b>Area 7</b>	<b>Area 8</b>
<b>200</b>	37,38	60020	99784	57783	53475	47308	46382	44596	42270
<b>150</b>	37,38	78756	71082	77975	72633	67856	66297	74190	70723
<b>125</b>	37,38	56891	58414	51216	54204	59085	60978	53779	51233
<b>100</b>	37,38	36040	33910	36264	36560	39110	34338	36237	33744
<b>75</b>	37,38	19943	21208	18175	18461	22853	23450	20209	23586

Los cromatogramas originales se encuentran en el computador acoplado al sistema cromatográfico en el data path:  
C:/archivos de programa/thermofinnigan/chromcard/data/firtsrun/attamix/OP MIX.

Con los datos de la tabla N° 3 se realizan los cálculos para la determinación de los parámetros de linealidad de cada plaguicida:

### 3.2.5. Parámetros de linealidad para malatión (pico nº 8).

Tabla Nº 4. Valores obtenidos para determinar los parámetros de linealidad de malatión.

Repetición Nº	X	Y	X <sup>2</sup>	Y <sup>2</sup>	XY
1	200	63205	40000	3994872025	12641000
	150	51267	22500	2628305289	7690050
	125	47588	15625	2264617744	5948500
	100	36352	10000	1321467904	3635200
	75	19792	5625	391723264	1484400
2	200	68927	40000	4750931329	13785400
	150	54581	22500	2979085561	8187150
	125	48381	15625	2340721161	6047625
	100	35189	10000	1238265721	3518900
	75	21728	5625	472105984	1629600
3	200	69414	40000	4818303396	13882800
	150	51284	22500	2630048656	7692600
	125	43290	15625	1874024100	5411250
	100	34791	10000	1210413681	3479100
	75	21417	5625	458687889	1606275
4	200	59864	40000	3583698496	11972800
	150	54010	22500	2917080100	8101500
	125	45901	15625	2106901801	5737625
	100	35433	10000	1255497489	3543300
	75	23517	5625	553049289	1763775
5	200	58542	40000	3427165764	11708400
	150	50785	22500	2579116225	7617750
	125	46978	15625	2206932484	5872250
	100	35309	10000	1246725481	3530900
	75	23584	5625	556205056	1768800
6	200	55814	40000	3115202596	11162800
	150	51016	22500	2602632256	7652400
	125	45723	15625	2090592729	5715375
	100	32368	10000	1047687424	3236800
	75	25800	5625	665640000	1935000
7	200	65083	40000	4235796889	13016600
	150	57927	22500	3355537329	8689050
	125	47930	15625	2297284900	5991250
	100	36136	10000	1305810496	3613600
	75	26576	5625	706283776	1993200
8	200	59739	40000	3568748121	11947800
	150	55817	22500	3115537489	8372550
	125	46484	15625	2160762256	5810500
	100	35148	10000	1235381904	3514800
	75	24906	5625	620308836	1867950
<b>Sumatoria</b>	<b>5200</b>	<b>1767596</b>	<b>750000</b>	<b>85929152890</b>	<b>252776625</b>

X: Concentración (mg / L), Y: Respuesta del detector (área).



### Calculo de la pendiente para malatión ( $Y = a X + b$ )

$$a = ((\sum X_i Y_i) - ((\sum X_i \sum Y_i) / n)) / (\sum X_i^2 - ((\sum X_i)^2 / n))$$

$$\Rightarrow a = ((252776625) - ((5200 \times 1767596) / 40)) / ((750000 - (27040000 / 40)))$$

$$a = 22989145 / 74000 = 310.66$$

### Calculo del intercepto para malatión

$$b = (\sum Y_i - a \sum X_i) / n$$

$$\Rightarrow b = ((1767596 - (310.66 \times 5200)) / 40)$$

$$b = 3804.1$$

$\Rightarrow$  Ecuación de la recta:  $Y = a X + b$

$$\underline{\underline{Y = 310.66 X + 3804.1}}$$

### Calculo del coeficiente de de regresión

$$r = ((\sum X_i Y_i) - ((\sum X_i \sum Y_i) / n)) / ((\sum X_i^2 - ((\sum X_i)^2 / n) (\sum Y_i^2 - ((\sum Y_i)^2 / n)))^{1/2}$$

$$r = ((252776625) - ((5200 \times 1767596) / 40)) / ((750000 - ((27040000 / 40)) (85929152890 - ((3124395619216 / 40))))^{1/2}$$

$$r = 22989145 / ((74000) (7819262409))^{1/2} = 0.956$$

En donde:

- a: estimador de la pendiente.
- b: estimador de la ordenada al origen.
- n : número de mediciones.
- $X_i$ : concentración de las soluciones de análisis.
- $Y_i$ : valor medido o respuesta para el ensayo i (area).

Dado que el valor de r no es el mejor indicador del modelo lineal se realiza una prueba estadística (test de student), en la cual se calcula el valor de  $t_r$  con  $n - 2$  grados de libertad ( $n$  = numero de mediciones) y se compara con el valor t tabulado para el nivel de confianza requerido.

### Test de student para r

Hipótesis nula:  $H_0$ : No hay correlación lineal entre los datos de X y Y.

Hipótesis alterna:  $H_1$ : Existe correlación lineal entre los datos de X y Y.

$$t_r \text{ calculado} = |r| (n - 2)^{1/2} / (1 - r^2)^{1/2}$$

$$\Rightarrow t_r \text{ calculado} = |0.956| (40 - 2)^{1/2} / ((1 - 0.956^2))^{1/2}$$

$$t_r \text{ calculado} = 5.948 / 0.2622 = 22.68$$

En una tabla de valores de test de student se encuentran los siguientes valores para los niveles de confianza en paréntesis:

t tabla: 2.712 (95 %) y 3.133 (99 %)

De esta manera como  $t_r$  calculado >  $t_r$  tabla se rechaza  $H_0$  y se acepta  $H_1$ ; por lo que se puede concluir que existe correlación lineal entre los datos de X y Y.

### Limites de confianza para la pendiente.

El límite de confianza para el estimador de la pendiente (a) se calcula en función de su varianza  $S_a$ :

$$S_a = ((S^2_{xy} / (\sum X_i^2 - ((\sum X_i)^2 / n)))^{1/2}$$

$$S^2_{xy} = ((\sum Y_i^2) - (b \sum Y_i) - (a \sum X_i Y_i)) / (n-2)$$

Por lo tanto:

$$S^2_{x,y} = ((85929152890) - (3804.1 \times 1767596) - (310.66 \times 252776625)) / 38$$

$$S^2_{x,y} = 17827753.2$$

$$S_a = (17827753.2 / (750000 - (27040000 / 40)))^{1/2}$$

$$S_a = (17827753.2 / (74000))^{1/2} = (240.92)^{1/2} = 15.52$$

Por lo que los limites de confianza del estimador de la pendiente son:

$$\text{Intervalo de confianza de } a = LCa = a \pm t S_a$$

$$LCa = 310.66 \pm 3.133 (15.52)$$

$$LCa = 310.66 \pm 48.63$$

### Limites de confianza para el intercepto

El límite de confianza para el estimador de la ordenada al origen (b) se calcula en función de su varianza  $S_b$ :

$$S_b = ((S_a^2) (\sum X_i^2) / n)^{1/2}$$

$$S_b = ((15.52)^2 (750000 / 40))^{1/2}$$

$$S_b = (240.87 \times 18750)^{1/2} = 2125.26$$

Intervalo de confianza de b:  $LCb = b \pm t * S_b$

$$LCb = 3804.1 \pm 3.133 \times 2125.16$$

$$LCb = 3804.1 \pm 6658.1$$

⇒ **Ecuación de calibración para determinación de malatión:**

$$Y = (310.66 \pm 48.63) X + (3804.1 \pm 6658.1)$$

### 3.2.6. Precisión instrumental para determinación de malatión

Los resultados de la determinación de este parámetro se realizaron sobre el sistema evaluando la dispersión de los valores de área obtenidos para ocho inyecciones en cada uno de los niveles de concentración de la curva de calibración. En todos los casos se presentó una desviación estándar relativa < del 10 %.

Tabla N° 5. Cálculo de la desviación estándar como factor de evaluación de la precisión del método CG-FID para determinación de malatión.

Concentración mg/L	Área								Área promedio	Desviación estándar	DER
200	63205	68927	69414	59864	58542	55814	65083	59739	62573,5	4945	7,90
150	51267	54581	51284	54010	50785	51016	57927	55817	53335,9	2662	4,99
125	47588	48381	43290	45901	46978	45723	47930	46484	46534,4	1615	3,47
100	36352	35189	34791	35433	35309	32368	36136	35148	35090,8	1217	3,47
75	19792	21728	21417	23517	23584	25800	26576	24906	23415,0	2327	9,94

### 3.2.7. Sensibilidad del método cromatográfico para determinación de malatión.

Para la determinación de los parámetros de sensibilidad del método instrumental se inyectó en el sistema cromatográfico diclorometano, reactivo utilizado como disolvente en la preparación de cada una de las soluciones de trabajo (blanco = línea base) y se realizó el análisis bajo las condiciones cromatográficas seleccionadas para la separación y cuantificación de la mezcla de plaguicidas organofosforados (numeral 3.1). El análisis se realizó de esta manera para 10 repeticiones de muestra blanco y en cada una se midió la señal del fondo (relación señal ruido) en el rango de tiempo de elución del pico que va desde 26.89 min. hasta 27.05 min., Tabla N° 6.

Tabla N° 6. Tabla N° 9. Valores de área obtenidos después de la inyección de muestras blanco de análisis (diclorometano) para determinación de malatión (26.89 a 27.05 min.) mediante GC-FID

Blanco	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Promedio	σ
Área	4213	4062	4010	3825	4600	3845	3450	3738	3745	3624	3911,2	327,0

σ: Desviación estándar.

### Calculo del límite de detección del método instrumental de análisis

La ecuación para el cálculo del límite de detección es:

$$\begin{array}{ll} \text{en unidades de área} & LD = (Y_{\text{blanco}} + 3 \sigma_{\text{blanco}}) \\ \text{en unidades de concentración} & LD = (Y_{\text{blanco}} + 3 \sigma_{\text{blanco}}) / a \end{array}$$

Sin embargo, como para la determinación de malatión mediante CG-FID se obtuvo un valor del intercepto de (3804.1) la ecuación de trabajo para esta determinación será:

$$\begin{aligned} LD &= ((Y_{\text{blanco}} + 3 \sigma_{\text{blanco}}) - 3804.1) / a \\ \Rightarrow LD &= 3911.2 + 3 (327) = 4892.2 \text{ en unidades de área} \\ LD &= (4892.2 - 3804.1) / 310.66 = 3.5 \text{ mg / L} \end{aligned}$$

### Calculo del límite de cuantificación del método instrumental de análisis

La ecuación para el cálculo del límite de cuantificación es:

$$\text{En unidades de concentración: } LC = (Y_{\text{blanco}} + 10 \sigma_{\text{blanco}}) / a$$

Sin embargo, como para la determinación de malatión mediante CG-FID se obtuvo un valor del intercepto de (3804.1) la ecuación de trabajo para esta determinación será:

$$\begin{aligned} LC &= ((Y_{\text{blanco}} + 10 \sigma_{\text{blanco}}) - 3804.1) / a \\ \Rightarrow LC &= 3911.2 + 10 (327) = 7181.2 \text{ en unidades de área} \\ LC &= (7181.2 - 3804.1) / 310.66 = 10.88 \text{ mg / L} \end{aligned}$$

### 3.2.8. Parámetros de linealidad para clorpirifos (pico nº 9)

Tabla Nº 7. Valores obtenidos para determinar los parámetros de linealidad de clorpirifos.

Repetición Nº	X	Y	X <sup>2</sup>	Y <sup>2</sup>	XY
1	200	455885	40000	2,078311332E+11	91177000
	150	345600	22500	1,194393600E+11	51840000
	125	253649	15625	6,433781520E+10	31706125
	100	85727	10000	7,349118529E+09	8572700
	75	26624	5625	7,088373760E+08	1996800
2	200	464598	40000	2,158513016E+11	92919600
	150	345286	22500	1,192224218E+11	51792900
	125	208898	15625	4,363837440E+10	26112250
	100	89877	10000	8,077875129E+09	8987700
	75	28508	5625	8,127060640E+08	2138100
3	200	451253	40000	2,036292700E+11	90250600
	150	341678	22500	1,167438557E+11	51251700
	125	202605	15625	4,104878603E+10	25325625,00
	100	85671	10000	7,339520241E+09	8567100
	75	31148	5625	9,701979040E+08	2336100
4	200	403624	40000	1,629123334E+11	80724800
	150	345694	22500	1,195043416E+11	51854100
	125	241724	15625	5,843049218E+10	30215500
	100	86480	10000	7,478790400E+09	8648000
	75	32019	5625	1,025216361E+09	2401425
5	200	416945	40000	1,738431330E+11	83389000
	150	331146	22500	1,096576733E+11	49671900
	125	246427	15625	6,072626633E+10	30803375
	100	90136	10000	8,124498496E+09	9013600
	75	31159	5625	9,708832810E+08	2336925
6	200	419436	40000	1,759265581E+11	83887200
	150	327728	22500	1,074056420E+11	49159200
	125	241284	15625	5,821796866E+10	30160500
	100	93725	10000	8,784375625E+09	9372500
	75	36987	5625	1,368038169E+09	2774025
7	200	405800	40000	1,646736400E+11	81160000
	150	345221	22500	1,191775388E+11	51783150
	125	240852	15625	5,800968590E+10	30106500
	100	103615	10000	1,073606823E+10	10361500
	75	37348	5625	1,394873104E+09	2801100
8	200	409967	40000	1,680729411E+11	81993400
	150	336970	22500	1,135487809E+11	50545500
	125	207728	15625	3,524180198E+10	23466000

	100	93486	10000	8,739632196E+09	9348600
	75	40932	5625	1,675428624E+09	3069900
<b>Sumatoria</b>	<b>5200</b>	<b>8963440</b>	<b>750000</b>	<b>2,892647175E+12</b>	<b>1414022000</b>

#### Calculo de la pendiente para clorpirifos ( $Y = a X + b$ )

$$a = ((\sum X_i Y_i) - ((\sum X_i \sum Y_i) / n)) / (\sum X_i^2 - ((\sum X_i)^2 / n))$$

$$\Rightarrow a = ((1414022000) - ((5200 \times 8963440) / 40)) / ((750000 - (27040000 / 40))$$

$$a = 248774800 / 74000 = 3361.8$$

#### Calculo del intercepto para clorpirifos

$$b = (\sum Y_i - a \sum X_i) / n$$

$$\Rightarrow b = ((8963440 - (3361.8 \times 5200)) / 40$$

$$b = -212948$$

$$\Rightarrow \text{Ecuación de la recta: } Y = a X + b$$

$$\underline{Y = 3361.8 X + (-212948)}$$

#### Calculo del coeficiente de de regresión

$$r = ((\sum X_i Y_i) - ((\sum X_i \sum Y_i) / n)) / ((\sum X_i^2 - ((\sum X_i)^2 / n) (\sum Y_i^2 - ((\sum Y_i)^2 / n))^{1/2}$$

$$r = ((1414022000 - (5200 \times 8963440) / 40)) / ((750000 - (27040000 / 40)) (2,892647175E+12 - ((80343256633600 / 40)))^{1/2}$$

$$r = 248774800 / ((74000) (884065759160))^{1/2} = 0.9726$$

En donde:

- a: estimador de la pendiente.
- b: estimador de la ordenada al origen.
- n : número de mediciones.
- Xi: concentración de las soluciones de análisis.
- Yi: valor medido o respuesta para el ensayo i (área).

Dado que el valor de r no es el mejor indicador del modelo lineal se realiza una prueba estadística (test de student), en la cual se calcula el valor de  $t_r$  con  $n - 2$  grados de libertad ( $n$  = número de mediciones) y se compara con el valor t tabulado para el nivel de confianza requerido.

### Test de student para r

Hipótesis nula:  $H_0$ : No hay correlación lineal entre los datos de X y Y.

Hipótesis alterna:  $H_1$ : Existe correlación lineal entre los datos de X y Y.

$$t_r \text{ calculado} = |r| (n - 2)^{1/2} / (1 - r^2)^{1/2}$$

$$\Rightarrow t_r \text{ calculado} = 10.97261 (40 - 2)^{1/2} / ((1 - 0.9726^2))^{1/2}$$

$$t_r \text{ calculado} = 5.995 / 0.2330 = 25.73$$

En una tabla de valores de test de student se encuentran los siguientes valores para los niveles de confianza en paréntesis:

t tabla: 2.712 (95 %) y 3.133 (99 %)

De esta manera como  $t_r \text{ calculado} > t_r \text{ tabla}$  se rechaza  $H_0$  y se acepta  $H_1$ ; por lo que se puede concluir que existe correlación lineal entre los datos de X y Y.

### Limites de confianza para la pendiente.

El límite de confianza para el estimador de la pendiente (a) se calcula en función de su varianza  $S_a$ :

$$S_a = ( ( S^2_{xy} / (\sum X_i^2 - ((\sum X_i)^2 / n)) ) )^{1/2}$$

$$S^2_{xy} = ((\sum Y_i^2) - (b \sum Y_i) - (a \sum X_i Y_i)) / (n-2)$$

Por lo tanto:

$$S^2_{x,y} = ((2,892647175E+12) - (-212948 \times 8963440) - (3361.8 \times 1414022000)) / 38$$

$$S^2_{x,y} = 1256174645.2$$

$$S_a = (1256174645.2 / (750000 - (27040000 / 40)))^{1/2}$$

$$S_a = (1256174645.2 / (74000))^{1/2} = (16975)^{1/2} = 130.3$$

Por lo que los limites de confianza del estimador de la pendiente son:

Intervalo de confianza de a =  $LCa = a \pm t S_a$

$$LCa = 3361.8 \pm 3.133 (130.3)$$

$$\Rightarrow \quad \mathbf{LCa = 3361.8 \pm 408.3}$$

### Limites de confianza para el intercepto

El límite de confianza para el estimador de la ordenada al origen (b) se calcula en función de su varianza  $S_b$ :

$$S_b = ((S_a^2) (\sum Xi^2) / n)^{1/2}$$

$$S_b = ((130.3)^2 (750000 / 40))^{1/2}$$

$$S_b = (16975 \times 18750)^{1/2} = 17840$$

Intervalo de confianza de b:  $LCb = b \pm t * S_b$

$$\Rightarrow \quad LCb = -212948 \pm 3.133 \times 17840$$

$$\mathbf{LCb = -212948 \pm 55894}$$

$\Rightarrow$  **Ecuación de calibración para determinación de clorpirifos:**

$$\mathbf{Y = (3361.8 \pm 3884.2) X + (-212948 \pm 55894)}$$

### 3.2.9. Precisión instrumental para determinación de clorpirifos

Los resultados de la determinación de este parámetro se realizaron sobre el sistema evaluando la dispersión de los valores de área obtenidos para ocho inyecciones en cada uno de los niveles de concentración de la curva de calibración. En los casos de concentración baja se presenta una dispersión con una desviación estándar relativa > del 10 %.

Tabla N° 8. Cálculo de la desviación estándar como factor de evaluación de la precisión del método CG-FID para determinación de clorpirifos.



Concentración mg/L	Area								Area promedio	Desviación estándar	DER
200	455885	464598	451253	403624	416945	419436	405800	409967	428438,5	24681	5,76
150	345600	345286	341678	345694	331146	327728	345221	336970	339915,4	7171	2,11
125	253649	208898	202605	241724	246427	241284	240852	207728	230395,9	20362	8,84
100	85727	89877	85671	86480	90136	93725	103615	93486	91089,6	5992	6,58
75	26624	28508	31148	32019	31159	36987	37348	40932	33090,6	4874	14,73

### 3.2.10. Sensibilidad del método cromatográfico para determinación de clorpirifos.

Para la determinación de los parámetros de sensibilidad del método instrumental se inyectó en el sistema cromatográfico diclorometano, reactivo utilizado como disolvente en la preparación de cada una de las soluciones de trabajo (blanco = línea base) y se realizó el análisis bajo las condiciones cromatográficas seleccionadas para la separación y cuantificación de la mezcla de plaguicidas organofosforados (numeral 3.1). El análisis se realizó de esta manera para 10 repeticiones de muestra blanco y en cada una se midió la señal del fondo (relación señal ruido) en el rango de tiempo de elución del pico que va desde 27.48 min. hasta 27.70 min. (Tabla N° 9).

Tabla N° 9. Valores de área obtenidos después de la inyección de muestras blanco de análisis (diclorometano) para determinación de clorpirifos (27.48 a 27.70 min.) mediante GC-FID.

Blanco	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Promedio	$\sigma$
Area	5212	5042	4852	4578	4623	5124	4784	5292	4767	4689	4896,3	253,8

$\sigma$ : Desviación estándar.

### Calculo del límite de detección del método instrumental de análisis

La ecuación para el cálculo del límite de detección es:

$$LD = (Y_{\text{blanco}} + 3 \sigma_{\text{blanco}}) / a$$

Sin embargo, como para la determinación de clorpirifos mediante CG-FID se obtuvo un valor del intercepto de (-212948) la ecuación de trabajo para esta determinación será:

$$LD = ((Y_{\text{blanco}} + 3 \sigma_{\text{blanco}}) - (-212948)) / a$$

$$\Rightarrow LD = 4896.3 + 3 (253.8) = 5657.7 \text{ en unidades de área}$$

$$LD = (5657.7 - (-212948)) / 3361.8 = 65.02 \text{ mg / L}$$

### Calculo del límite de cuantificación del método instrumental de análisis

La ecuación para el cálculo del límite de cuantificación es:

$$LC = (Y_{\text{blanco}} + 10 \sigma_{\text{blanco}}) / a$$

como para la determinación de clorpirifos mediante CG-FID se obtuvo un valor del intercepto de

(-212948) la ecuación de trabajo para esta determinación será:

$$LC = ((Y_{\text{blanco}} + 10 \sigma_{\text{blanco}}) - (-212948)) / a$$

$$\Rightarrow LC = 4896.3 + 10 (253.8) = 7434.3 \text{ en unidades de área}$$

$$LC = (7434.3 - (-212948)) / 3361.8 = 65.55 \text{ mg / L}$$

### 4. CONCLUSIONES

Se desarrollo un método mediante cromatografía de gases con detector de ionización por llama (GC-FID) con valores de los parámetros cromatográficos óptimos para la separación de una mezcla de 15 plaguicidas organofosforados. A partir de la solución stock de la mezcla se prepararon soluciones de trabajo que fueron analizadas con las replicas necesarias para efectuar la validación estadística del método instrumental para cuantificación de clorpirifos y malatión, presentes en dicha solución. Las ecuaciones de calibración encontradas para la determinación mediante esta técnica de análisis fueron:  $Y = (3361.8 \pm 3884.2) X + (-212948 \pm 55894)$  para clorpirifos e  $Y = (310.66 \pm 48.63) X + (3804.1 \pm 6658.1)$  para malatión, con límites de cuantificación de 65.55 mg / L y 10.88 mg / L, respectivamente.

## **5. BIBLIOGRAFIA.**

INSTITUTO COLOMBIANO DE NORMAS TÉCNICAS Y CERTIFICACIÓN. Como implementar un sistema de gestión práctico y eficaz en laboratorios de ensayo y calibración. Bogotá: ICONTEC 2004.

Miller, J.N., Miller, J.C. Estadística para química analítica. E.U., 1993, Addison – Wesley iberoamerican S.A. segunda edición. pp 87 - 119

Swartz, M.E.; Krull, I.S. Analytical method development and validation. Waters. New York, 1997, Marcel Dekker, INC. pp 25-65.

Quatrocchi, O.A.; Abelaira, S.I.; Lara, R.F. Introducción a la HPLC. Aplicación y práctica. Argentina, 1992, Artes graficas Farro. pp 267 – 328.



**29 Palms Laboratory**  
**47-250 Dillon Road**  
**Coachella, Ca 92236**  
**Phone 760-398-0050**  
**Fax 760-398-0028**

**Title:** EPA Method 3510C  
**Number:** CP 0007  
**Release Date:** 6/12/02  
**Revised Date:** 6/12/02  
**Version:** 1.0

**DOCUMENT TYPE:** Chemistry Procedure

**TITLE:** Separatory Funnel Liquid-Liquid Extraction of Pesticides  
EPA Method 3510C

**PREPARED BY:** Marshall K. Cheung, Ph.D., Laboratory Director \_\_\_\_\_

**REVIEWED BY:** Anne Cheung, Laboratory Manager \_\_\_\_\_  
Kristina Davis, Analytical Chemist \_\_\_\_\_

**APPROVED BY:** Marshall K. Cheung, Ph.D., Laboratory Director \_\_\_\_\_

## **CONTENTS**

1.	Scope and Application .....	7
2.	Summary of Method .....	7
3.	Sample Handling and Preservation .....	7
4.	Interferences .....	7
5.	Apparatus .....	8
6.	Reagents .....	8
7.	Procedure .....	12
8.	Quality Control .....	13
9.	Bibliography .....	13



29 Palms Laboratory  
47-250 Dillon Road  
Coachella, Ca 92236  
Phone 760-398-0050  
Fax 760-398-0028

Title: EPA Method 3510C  
Number: CP 0007  
Release Date: 6/12/02  
Revised Date: 6/12/02  
Version: 1.0



**29 Palms Laboratory**  
**47-250 Dillon Road**  
**Coachella, Ca 92236**  
**Phone 760-398-0050**  
**Fax 760-398-0028**

**Title: EPA Method 3510C**  
**Number: CP 0007**  
**Release Date: 6/12/02**  
**Revised Date: 6/12/02**  
**Version: 1.0**

<b><i>Document No.:</i></b>	<b><i>CP 0007 – 1.0 - 006</i></b>
<b><i>Copy provided to:</i></b>	29 Palms Band of Mission Indians
<b><i>Title:</i></b>	Tribal Council
<b><i>Address:</i></b>	46-200 Harrison Place Coachella, CA 92236
<b><i>Copy provided by:</i></b>	<b>Jan Kilduff, Ph.D.</b>
<b><i>Title:</i></b>	Laboratory QA Officer
<b><i>Date:</i></b>	June 27, 2005



**29 Palms Laboratory**  
**47-250 Dillon Road**  
**Coachella, Ca 92236**  
**Phone 760-398-0050**  
**Fax 760-398-0028**

**Title: EPA Method 3510C**  
**Number: CP 0007**  
**Release Date: 6/12/02**  
**Revised Date: 6/12/02**  
**Version: 1.0**



29 Palms Laboratory  
47-250 Dillon Road  
Coachella, Ca 92236  
Phone 760-398-0050  
Fax 760-398-0028

Title: EPA Method 3510C  
Number: CP 0007  
Release Date: 6/12/02  
Revised Date: 6/12/02  
Version: 1.0

## Revision History

Version	Date	Revision Highlights
1.0	06-12-2002	Original version





**29 Palms Laboratory**  
**47-250 Dillon Road**  
**Coachella, Ca 92236**  
**Phone 760-398-0050**  
**Fax 760-398-0028**

**Title: EPA Method 3510C**  
**Number: CP 0007**  
**Release Date: 6/12/02**  
**Revised Date: 6/12/02**  
**Version: 1.0**



**29 Palms Laboratory**  
**47-250 Dillon Road**  
**Coachella, Ca 92236**  
**Phone 760-398-0050**  
**Fax 760-398-0028**

**Title: EPA Method 3510C**  
**Number: CP 0007**  
**Release Date: 6/12/02**  
**Revised Date: 6/12/02**  
**Version: 1.0**

**METHOD #:** EPA Method 3510C  
**TITLE:** Separatory Liquid-Liquid Extraction of Pesticides  
**ANALYTE:** Organochlorine, Organophosphorus, and N-Methylcarbamate Pesticides  
**INSTRUMENTATION:** Separatory Funnel

## 1. Scope and Application

- 1.1** This method describes a procedure for isolating organochlorine, organophosphorus, and N-methylcarbamate pesticides from aqueous samples. The method also describes concentration and cleanup techniques suitable for preparing the extract for the appropriate determinative methods described for organochlorine, organophosphorus, and N-methylcarbamate pesticide analyses.
- 1.2** This method is restricted to use by or under the supervision of trained analysts.
- 1.3** Each analyst must demonstrate the ability to generate acceptable results with this method.

## 2. Summary of Method

- 2.1** A measured volume of sample, usually 1 liter, at a specified pH (5-9 for organochlorine and organophosphorus pesticides, and as received for N-methyl carbamate pesticides) is serially extracted with methylene chloride using a separatory funnel.
- 2.2** The extract is dried, concentrated, and, exchanged into a solvent compatible with the determinative method to be used (hexane for organochlorine and organophosphorus pesticides, and methanol for N-methyl carbamate pesticides).

## 3. Sample Handling and Preservation

- 3.1** Analysis should be made as soon as possible.
- 3.2** If analysis can be made within 24 hours, the sample should be preserved by refrigeration at 4°C.
- 3.3** When samples must be stored for more than 24 hours, they should be preserved with sulfuric acid (2 ml conc. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> per liter) and refrigeration.

## 4. Interferences

- 4.1** Solvents, reagents, glassware, and other sample processing hardware may yield artifacts and/or interferences to sample analysis. All these materials must be demonstrated to be free from interferences under the conditions of the analysis by analyzing method blanks. Specific selection of reagents and purification of solvents by distillation in all-glass systems may be necessary.
- 4.2** Interferences coextracted from the samples will vary considerably from source to source. If analysis of an extracted sample is prevented due to interferences, florisil cleanup of the sample extract may be necessary.
- 4.3** Phthalate esters contaminate many types of products commonly found in the laboratory.



Plastics, in particular, must be avoided because phthalates are commonly used as plasticizers and are easily extracted from plastic materials. Serious phthalate contamination may result at any time if consistent quality control is not practiced.

- 4.4** Organochlorine pesticides may dechlorinate.
- 4.5** Soap residue (e.g. sodium dodecyl sulfate), which results in a basic pH on glassware surfaces, may cause degradation of certain analytes. Specifically, Aldrin, Heptachlor, and most organophosphorus pesticides will degrade in this situation. This problem is especially pronounced with glassware that may be difficult to rinse (e.g., 500-mL K-D flask). These items should be hand-rinsed very carefully to avoid this problem.

## 5. Apparatus

- 5.1** Separatory funnel - 2-liter, with polytetrafluoroethylene (PTFE) stopcock.
- 5.2** Drying column - 20 mm ID Pyrex® chromatographic column with Pyrex® glass wool at bottom and a PTFE stopcock. Use a small pad of Pyrex® glass wool to retain the adsorbent. Prewash the glass wool pad with 80 ml of acetone after packing the column with 30.0 g Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.
- 5.3** Kuderna-Danish (K-D) apparatus.
  - 5.3.1** Concentrator tube - 10-mL, graduated (Kontes K-570050-1025 or equivalent). A ground-glass stopper is used to prevent evaporation of extracts.
  - 5.3.2** Evaporation flask - 500-mL (Kontes K-570001-500 or equivalent). Attach to concentrator tube with springs, clamps, or equivalent.
  - 5.3.3** Snyder column - Three-ball macro.
- 5.4** Boiling chips – Teflon, approximately 10/40 mesh
- 5.5** Water bath - Heated, with concentric ring cover, capable of temperature control ( $\pm 5^{\circ}\text{C}$ ). The bath is located in a hood.
- 5.6** Vials - 2-mL, glass with PTFE-lined screw-caps.
- 5.7** pH indicator paper - pH range including the desired extraction pH.
- 5.8** Erlenmeyer flask - 250-ml.
- 5.9** Pasteur pipettes – 9 inches
- 5.10** Graduated cylinder - 1-liter.

## 6. Reagents

- 6.1** Reagent grade chemicals shall be used. Unless otherwise indicated, all reagents shall conform to the specifications stated in the 29 Palms Laboratory Quality Assurance Plan.
- 6.2** Reagents should be stored in glass to prevent the leaching of contaminants from plastic containers.
- 6.3** Organic-free reagent water - All references to water in this method refer to organic-free reagent water, as defined in the 29 Palms Laboratory Quality Assurance Plan.
- 6.4** Sodium hydroxide solution (10 N), NaOH. Dissolve 40 g NaOH in organic-free reagent water and dilute to 100 mL. Other concentrations of hydroxide solutions may be used to adjust sample pH, provided that the volume added does not appreciably change (e.g., <1%) the total sample volume.



- 6.5** Sulfuric acid solution (1:1 v/v), H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Slowly add 50 mL of H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (sp. gr. 1.84) to 50 mL of organic-free reagent water. Other concentrations of acid solutions may be used to adjust sample pH, provided that the volume added does not appreciably change (e.g., <1%) the total sample volume.
- 6.6** Sodium sulfate (granular, anhydrous), Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. For each lot of sodium sulfate, a method blank must be analyzed demonstrating that there is no interference from the sodium sulfate.
- 6.7** Extraction/exchange solvents - All solvents must be pesticide quality or equivalent.
- 6.7.1** Methylene chloride, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, boiling point 39°C.
- 6.7.2** Hexane, C<sub>6</sub>H<sub>14</sub>, boiling point 68.7°C.
- 6.7.3** Methanol, boiling point 65.0°C.
- 6.8** Surrogate spike solutions
- 6.8.1** Organochlorine pesticide analysis
- 6.8.1.1** Stock OC Surrogate Solution (100 µg/mL)
- 6.8.1.1.1** Dibutylchlorendate (DBC) – Chem Service F-850
- 6.8.1.1.2** Accurately weigh 0.0100 g of DBC.
- 6.8.1.1.3** Dissolve in acetone and dilute to volume in a 100-mL volumetric flask.
- 6.8.1.2** OC Surrogate Solution (0.10 µg/L)
- 6.8.1.2.1** Add 0.10 mL of stock OC surrogate spike solution (**6.8.1.1**) to a 100 mL volumetric flask containing ~80 mL acetone.
- 6.8.1.2.2** Volume to 100 ml with acetone and mix.
- 6.8.1.2.3** A 1-ml aliquot of the OC surrogate spike solution (0.10 µg ) is added to all samples, method blanks, matrix spikes and matrix spike duplicate just prior to organochlorine pesticides extraction.
- 6.8.2** Organophosphorus pesticide analysis
- 6.8.2.1** Stock OP Surrogate Solutions
- 6.8.2.1.1** Stock Triphenyl Phosphate (TPP) Solution (1000 µg/mL)
- 6.8.2.1.1.1** Accurately weigh 0.1000 g of TPP (Chem Service O-921) into a 100-mL volumetric flask.
- 6.8.2.1.1.2** Dissolve in acetone ~80 mL acetone and dilute to volume.
- 6.8.2.1.2** Stock Tributyl Phosphate (TBP) Solution (1000 µg/mL)
- 6.8.2.1.2.1** Accurately weigh 0.1000 g of TBP (Chem Service F2191) into a 100-mL volumetric flask.
- 6.8.2.1.2.2** Dissolve in acetone ~80 mL acetone and dilute to volume.
- 6.8.2.2** OP Surrogate Solution (10 µg/mL TPP, 1.0 µg/mL TBP)
- 6.8.2.2.1** Add 1.0 mL of stock TPP solution (**6.8.2.1.1**) and 0.10 mL of stock TBP solution (**6.8.2.1.2**) to a 100-ml volumetric flask containing ~80 ml of acetone.
- 6.8.2.2.2** Volume to 100 ml with acetone and mix.
- 6.8.2.2.3** A 1-ml aliquot of the OP surrogate spike solution (10 µg TPP and 1.0 µg TBP) is added to all samples, blanks, matrix spikes and



matrix spike duplicates just prior to organophosphorus pesticides extraction.

**6.8.3 N-methylcarbamate pesticide analysis**

**6.8.3.1 Stock MC surrogate solution (1000 µg/mL)**

**6.8.3.1.1** 4-bromo-3,5-dimethylphenyl N-methylcarbamate (BDMC) – Aldrich 34,694-2 (98%)

**6.8.3.1.2** Accurately weigh 0.1000 g of BDMC.

**6.8.3.1.3** Dissolve in methanol and dilute to volume in a 100-mL volumetric flask.

**6.8.3.2 MC Surrogate spike solution (10 µg/mL)**

**6.8.3.2.1** Add 1.0 mL of BDMC stock MC surrogate solution (**6.8.3.1**) to a 100-ml volumetric flask containing ~80 ml of methanol.

**6.8.3.2.2** Volume to 100 ml with methanol and mix.

**6.8.3.2.3** A 1-ml aliquot of the MC surrogate spike solution (10 µg) is added to all samples, blanks, matrix spikes and matrix spike duplicates just prior to N-methylcarbamate pesticides extraction.

**6.9 Matrix spike solutions**

**6.9.1 Organochlorine pesticide analysis**

**6.9.1.1 Stock OC Matrix Spike Solution (100 µg/mL each pesticide)**

**6.9.1.1.1** Certified composite stock standard solution is purchased commercially from Chem Service – Cat. No. PPO-8M containing 16 pesticides in Toluene: Hexane (50:50).

**6.9.1.1.1.1** Aldrin™

**6.9.1.1.1.2** α-BHC

**6.9.1.1.1.3** β-BHC

**6.9.1.1.1.4** δ-BHC

**6.9.1.1.1.5** γ-BHC (Lindane)

**6.9.1.1.1.6** Dieldrin

**6.9.1.1.1.7** 4,4'-DDD

**6.9.1.1.1.8** 4,4'-DDE

**6.9.1.1.1.9** 4,4'-DDT

**6.9.1.1.1.10** Endosulfan I

**6.9.1.1.1.11** Endosulfan II

**6.9.1.1.1.12** Endosulfan Sulfate

**6.9.1.1.1.13** Endrin

**6.9.1.1.1.14** Endrin Aldehyde

**6.9.1.1.1.15** Heptachlor

**6.9.1.1.1.16** Heptachlor Epoxide

**6.9.1.1.2** Each pesticide compound in the mix is certified to be 100 µg/mL ± 5%.

**6.9.1.2 Working OC Matrix Spike Solution (1.0 µg/mL each pesticide)**

**6.9.1.2.1** Add 1.0 mL of stock matrix spike solution (**6.9.1.1**) to a 100-ml volumetric flask containing ~80 ml of acetone.

**6.9.1.2.2** Volume to 100 ml with acetone and mix.



- 6.9.1.3** OC Matrix Spike Solution (0.10 µg/mL each pesticide)
  - 6.9.1.3.1** Add 10 mL of working matrix spike solution (**6.9.1.2**) to a 100-ml volumetric flask containing ~80 ml of acetone.
  - 6.9.1.3.2** Volume to 100 ml with acetone and mix.
  - 6.9.1.3.3** A 1-ml aliquot of the OC matrix spike solution (0.10 µg ) is added to matrix spikes and matrix spike duplicate samples just prior to organochlorine pesticides extraction.
- 6.9.2** Organophosphorus pesticide analysis
  - 6.9.2.1** Stock OP matrix spike solution (100 µg/mL)
    - 6.9.2.1.1** Certified composite stock standard solution is purchased commercially from Chem Service – Cat. No. CR-8141-1M containing 5 pesticides in cyclohexane.
      - 6.9.2.1.1.1** Diazinon
      - 6.9.2.1.1.2** Ethion
      - 6.9.2.1.1.3** Malathion
      - 6.9.2.1.1.4** Methyl Parathion
      - 6.9.2.1.1.5** Parathion™
    - 6.9.2.1.2** Each pesticide compound in the mix is certified to be 100 µg/mL ± 5%.
  - 6.9.2.2** OP Matrix spike solution (1.0 µg/mL each pesticide)
    - 6.9.2.2.1** Add 1-ml of stock OP matrix spike solution (**6.9.2.1**) to a 100-ml volumetric flask containing ~80 ml acetone.
    - 6.9.2.2.2** Volume to 100 ml with acetone.
    - 6.9.2.2.3** A 1-ml aliquot of the matrix spike solution (1.0 µg each pesticide) is added to matrix spike and matrix spike duplicate samples just prior to organophosphorus pesticides extraction.
- 6.9.3** N-methylcarbamate pesticide analysis
  - 6.9.3.1** Stock MC matrix spike solution (100 µg/mL)
    - 6.9.3.1.1** Certified composite stock standard solution is purchased commercially from Chem Service – Cat. No. CP-8318M containing 10 pesticides in acetonitrile.
      - 6.9.3.1.1.1** Aldicarb
      - 6.9.3.1.1.2** Aldicarb Sulfone
      - 6.9.3.1.1.3** Aldicarb sulfoxide
      - 6.9.3.1.1.4** Carbaryl
      - 6.9.3.1.1.5** Carbofuran
      - 6.9.3.1.1.6** 3-Hydroxy Carbofuran
      - 6.9.3.1.1.7** Methiocarb
      - 6.9.3.1.1.8** Methomyl
      - 6.9.3.1.1.9** Oxamyl
      - 6.9.3.1.1.10** Propoxur
    - 6.9.3.1.2** Each pesticide compound in the mix is certified to be 100 µg/mL ± 5%.
  - 6.9.3.2** MC Matrix spike solution (10 µg/mL each pesticide)





- 6.9.3.2.1** Add 1-ml of stock MC matrix spike solution (**6.9.3.1**) to a 10-ml volumetric flask containing ~8 ml methanol.
- 6.9.3.2.2** Volume to 10 ml with methanol.
- 6.9.3.2.3** A 1-ml aliquot of the matrix spike solution (10 µg each pesticide) is added to matrix spike and matrix spike duplicate samples just prior to N-methylcarbamate pesticides extraction.

## 7. Procedure

- 7.1** Water samples are collected in 1 liter glass sampling bottles and the entire contents of the sample bottle are to be extracted.
- 7.2** Mark the level of sample on the outside of the bottle.
- 7.3** Check the pH of the sample with wide-range pH paper and adjust the pH, if necessary, to pH 5-9, using 1:1 (v/v) sulfuric acid or 10 N sodium hydroxide. Lesser strengths of acid or base solution may be employed, provided that they do not result in a significant change (<1%) in the volume of sample extracted (see Sections. **6.4** and **6.5**).
- 7.4** Pipet 1.0 mL of the surrogate spiking solution into each sample in the sample bottle and mix well.
  - 7.4.1** For organochlorine pesticide analysis, the surrogate solution **6.8.1**
  - 7.4.2** For organophosphorus pesticide analysis, the surrogate solution **6.8.2**
  - 7.4.3** For N-methylcarbamate pesticide analysis, the surrogate solution **6.8.3.2**.
- 7.5** For the sample in each batch selected for use as a matrix spike and matrix spike duplicate samples, add 1.0 mL of the matrix spiking solution.
  - 7.5.1** For organochlorine pesticide analysis, the matrix spike solution **6.9.1**
  - 7.5.2** For organophosphorus pesticide analysis, the matrix spike solution **6.9.2**
  - 7.5.3** For N-methylcarbamate pesticide analysis, the matrix spike solution **6.9.3.2**.
- 7.6** Quantitatively transfer the sample from the sample bottle to the separatory funnel.
- 7.7** Seal and shake the separatory funnel vigorously for 1 - 2 minutes with periodic venting to release excess pressure. NOTE: Methylene chloride creates excessive pressure very rapidly; therefore, initial venting should be done immediately after the separatory funnel has been sealed and shaken once. The separatory funnel should be vented into a hood to avoid exposure of the analyst to solvent vapors.
- 7.8** Allow the organic layer to separate from the water phase for a minimum of 10 minutes.
  - 7.8.1** If the emulsion interface between layers is more than one-third the size of the solvent layer, mechanical techniques are used to complete the phase separation. The optimum technique depends upon the sample and may include stirring, filtration of the emulsion through glass wool, centrifugation, or other physical methods.
  - 7.8.2** If the emulsion cannot be broken (recovery of < 80% of the methylene chloride, corrected for the water solubility of methylene chloride), transfer the sample, solvent, and emulsion into a 250 mL separatory funnel for additional extraction and phase separation.
- 7.9** Collect the solvent extract in an Erlenmeyer flask.
- 7.10** Use 60 mL of methylene chloride to rinse the sample bottle and transfer this rinse solvent to the separatory funnel.
- 7.11** Repeat Sec. **7.7** to **7.8** and combine the solvent extract from Sec.**7.9**.



**29 Palms Laboratory**  
**47-250 Dillon Road**  
**Coachella, Ca 92236**  
**Phone 760-398-0050**  
**Fax 760-398-0028**

**Title: EPA Method 3510C**  
**Number: CP 0007**  
**Release Date: 6/12/02**  
**Revised Date: 6/12/02**  
**Version: 1.0**

- 7.12** Repeat Sec. **7.10** and **7.11** one more time, combining all three of the solvent extracts in the Erlenmeyer flask.
- 7.13** After the final rinse, refill the sample bottle to the mark made in Sec. **7.1** with water and then measure and record the volume of sample that was in the bottle.
- 7.14** Assemble a Kuderna-Danish (K-D) concentrator (Sec. 4.3) by attaching a 10-mL concentrator tube to a 500-mL evaporation flask.
- 7.15** Dry the combined extracts by passing it through a drying column containing about 10 cm (30.1 g) of anhydrous sodium sulfate. Collect the dried extract in the K-D concentrator (Sec. **7.14**).
- 7.16** Rinse the Erlenmeyer flask, which contained the solvent extract, with 30 mL aliquots of methylene chloride and add it to the column.
- 7.17** Repeat Sec. **7.16** two more times to complete the quantitative transfer.
- 7.18** Add one or two clean boiling chips to the K-D flask and attach a three-ball Snyder column.
- 7.19** Pre-wet the Snyder column by adding about 1 mL of methylene chloride to the top of the column.
- 7.20** Place the K-D apparatus on a 80°C water bath so that the concentrator tube is partially immersed in the hot water and the entire lower rounded surface of the flask is bathed with hot vapor. Adjust the vertical position of the apparatus and the water temperature as required to complete the concentration in 10 –20 minutes. At the proper rate of distillation the balls of the column will actively chatter, but the chambers will not flood.
- 7.21** When the apparent volume of liquid reaches less than 5 mL, pour the exchange solvent into the top of the Snyder column while the concentrator remains in the water bath.
  - 7.21.1** For organochlorine and organophosphorus pesticide analyses, 50 mL hexane is used for the exchange solvent.
  - 7.21.2** For N-methylcarbamate pesticides, 9 mL of methanol is used for the exchange solvent.
- 7.22** Concentrate the extract, as described in Sec. **7.20** by lowering the K-D concentrator to increase the temperature of the water bath, if necessary, to maintain proper distillation. For N-methylcarbamate pesticide analysis, ensure that the bath temperature does not exceed 90°C.
- 7.23** Remove the Snyder column and rinse the flask and its lower joints into the concentrator tube with 1 - 2 mL of methylene chloride or exchange solvent. and adjust the extract to 10.0 mL with the solvent last used.

## 8. Quality Control

- 8.1** Any reagent blanks, matrix spikes, or replicate samples should be subjected to exactly the same analytical procedures as those used on actual samples.
- 8.2** Refer to 29 Palms Laboratory QAP for specific quality control procedures.

## 9. Bibliography

- 9.1** EPA Method 3510C, Revision 3, December 1996.
- 9.2** 29 Palms Laboratory Quality Assurance Plan (QAP).





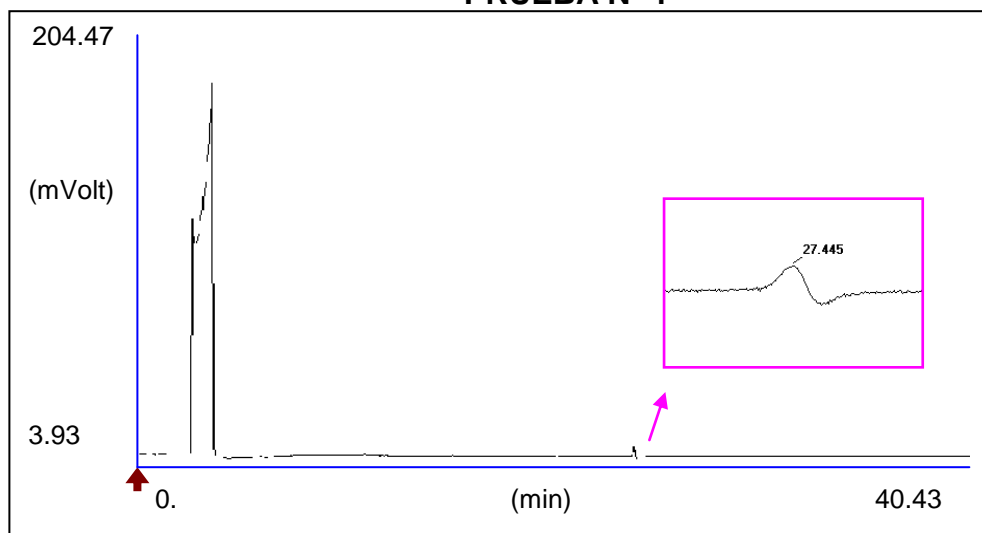
**29 Palms Laboratory**  
**47-250 Dillon Road**  
**Coachella, Ca 92236**  
**Phone 760-398-0050**  
**Fax 760-398-0028**

**Title: EPA Method 3510C**  
**Number: CP 0007**  
**Release Date: 6/12/02**  
**Revised Date: 6/12/02**  
**Version: 1.0**

## **ANEXO N°5**

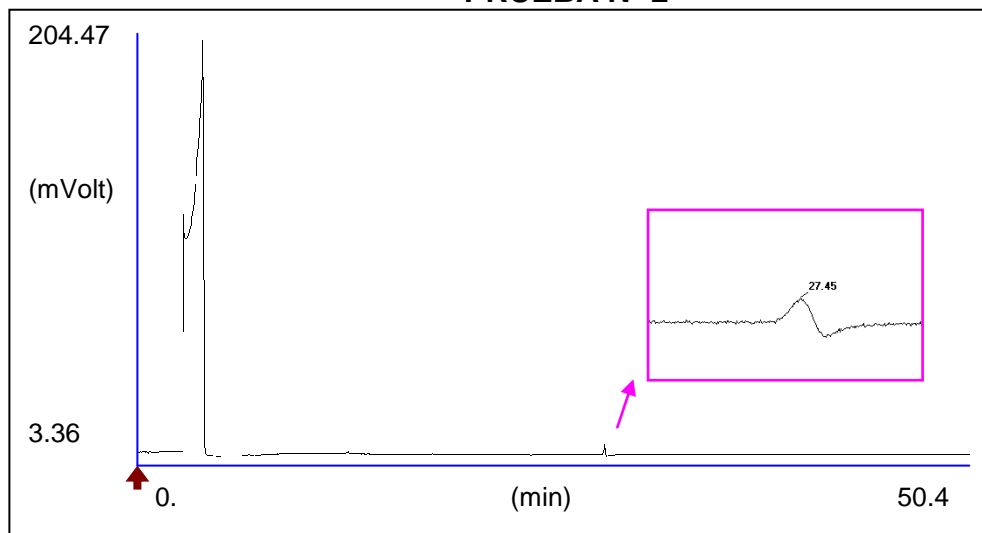
### **CROMATOGRAMAS**

### PRUEBA Nº 1



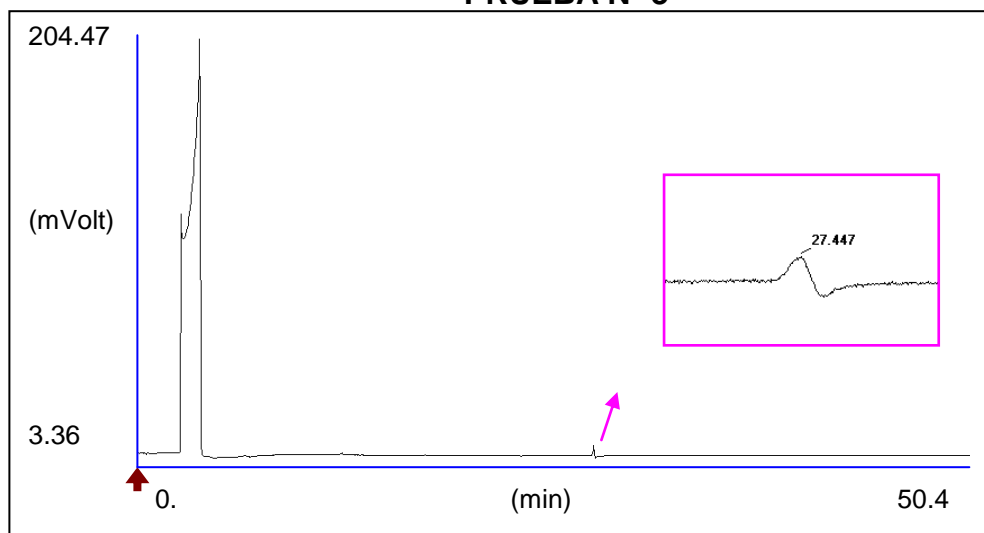
INFORMACION DEL PICO		INICIO PICO	27,37
AREA	37854	FIN PICO	27,52
CONCETRACION	109,61	TIEMPO DE RETENCION	27,445

### PRUEBA Nº 2



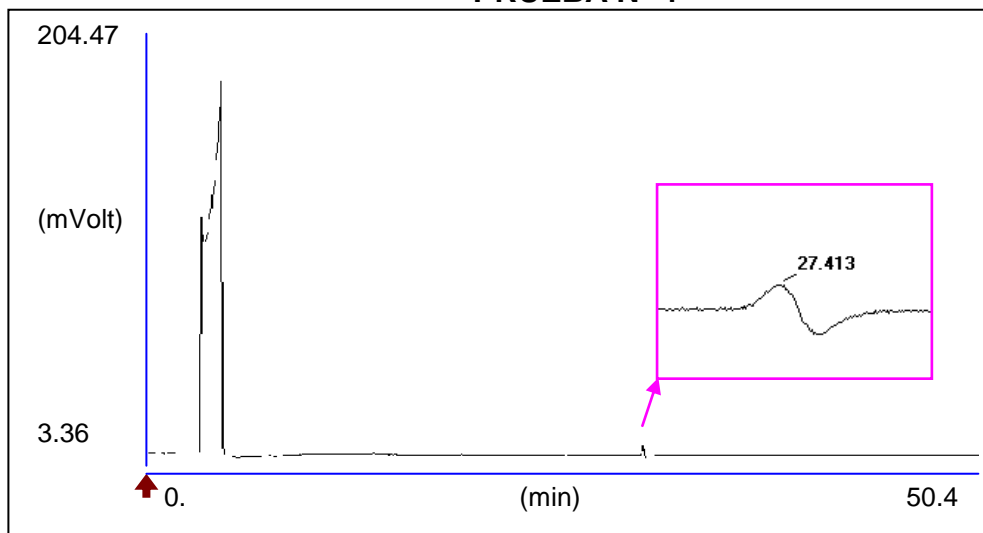
INFORMACION DEL PICO		INICIO PICO	27,37
AREA	32218	FIN PICO	27,53
CONCETRACION	91,46	TIEMPO DE RETENCION	27,45

### PRUEBA Nº 3



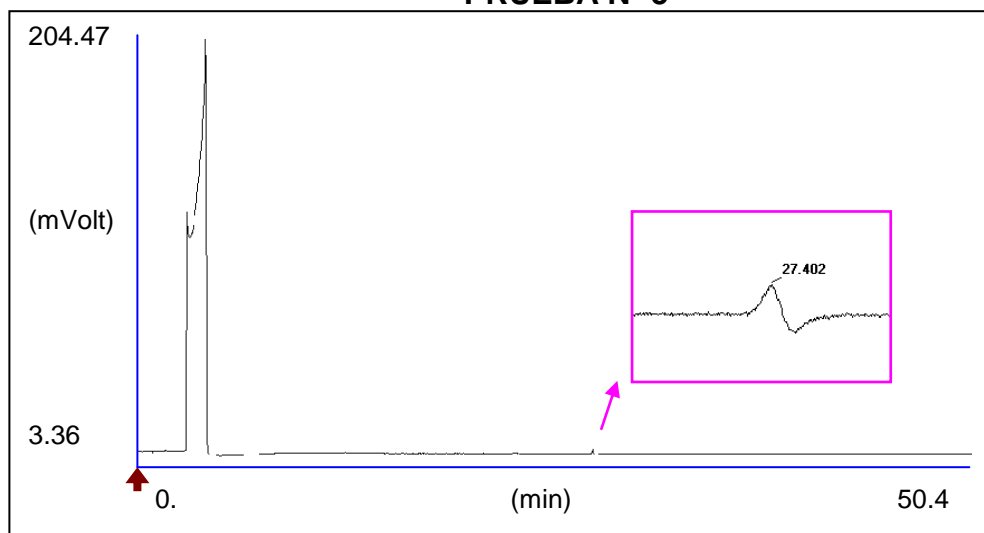
INFORMACION DEL PICO		INICIO PICO	27,35
AREA	31950	FIN PICO	27,52
CONCETRACION	90,60	TIEMPO DE RETENCION	27,447

### PRUEBA Nº 4



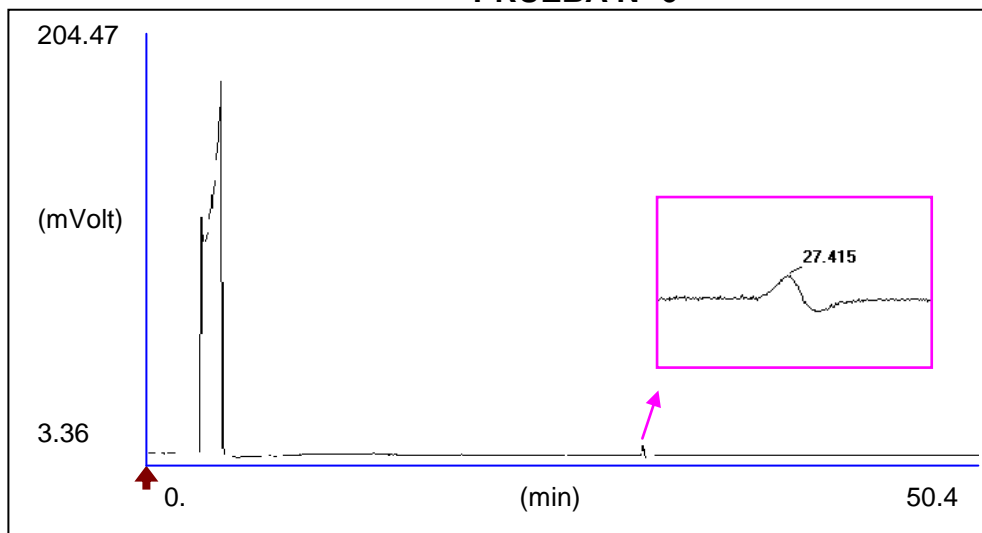
INFORMACION DEL PICO		INICIO PICO	27,32
AREA	36670	FIN PICO	27,49
CONCETRACION	105,79	TIEMPO DE RETENCION	27,413

### PRUEBA Nº 5



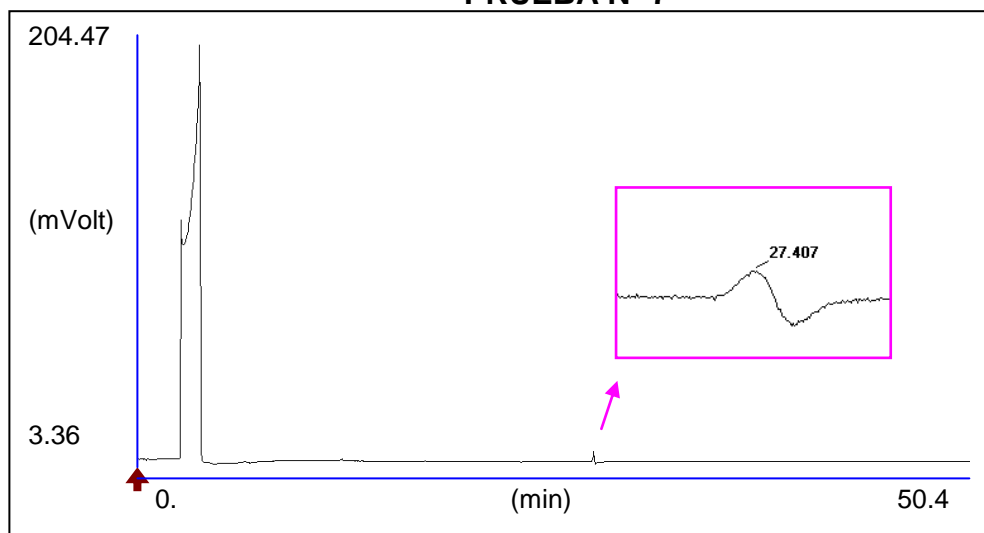
INFORMACION DEL PICO		INICIO PICO	27,42
AREA	35912	FIN PICO	27,33
CONCETRACION	103,35	TIEMPO DE RETENCION	27,402

### PRUEBA Nº 6



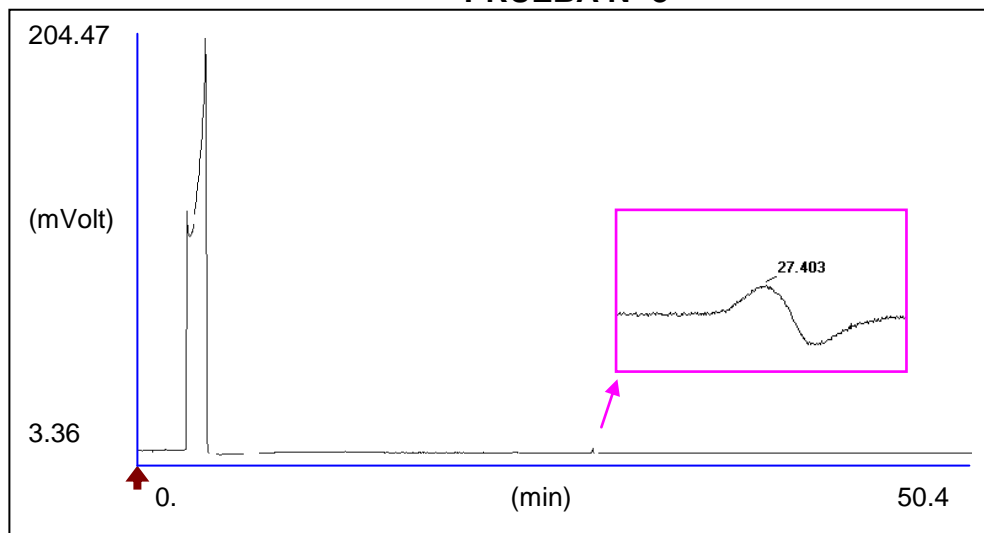
INFORMACION DEL PICO		INICIO PICO	27,31
AREA	36806	FIN PICO	27,48
CONCETRACION	106,23	TIEMPO DE RETENCION	27,415

### PRUEBA Nº 7



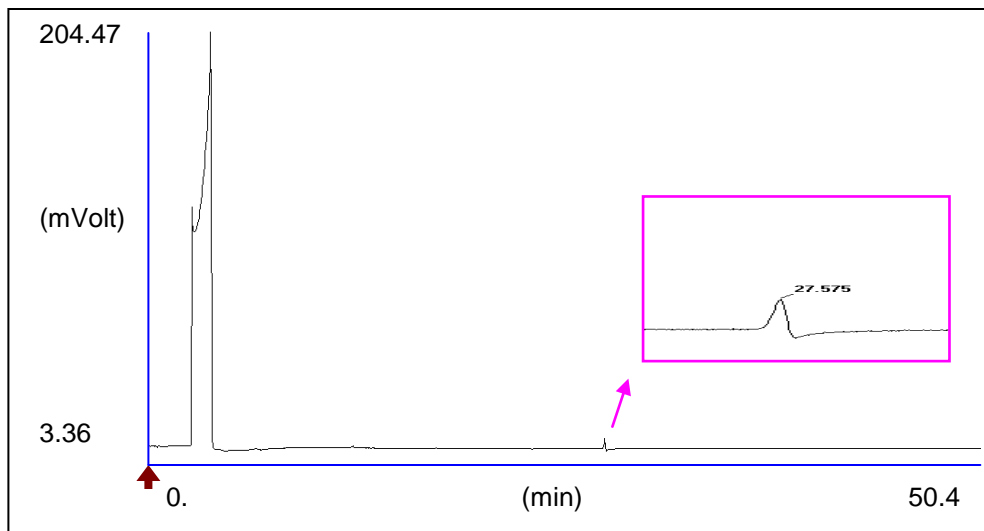
INFORMACION DEL PICO		INICIO PICO	27,33
AREA	34028	FIN PICO	27,48
CONCETRACION	97,29	TIEMPO DE RETENCION	27,407

### PRUEBA Nº 8



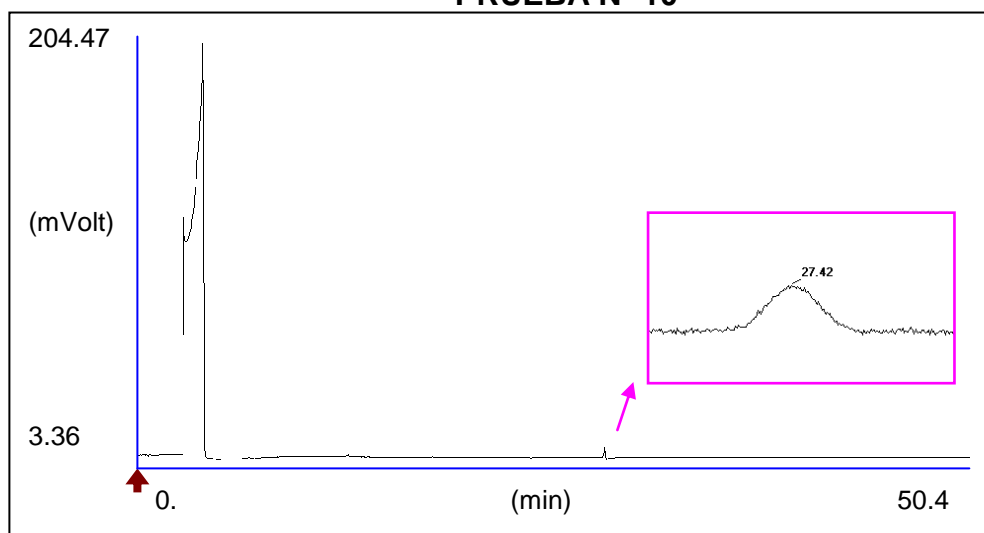
INFORMACION DEL PICO		INICIO PICO	27,32
AREA	34889	FIN PICO	27,47
CONCETRACION	100,06	TIEMPO DE RETENCION	27,403

## PRUEBA N° 9



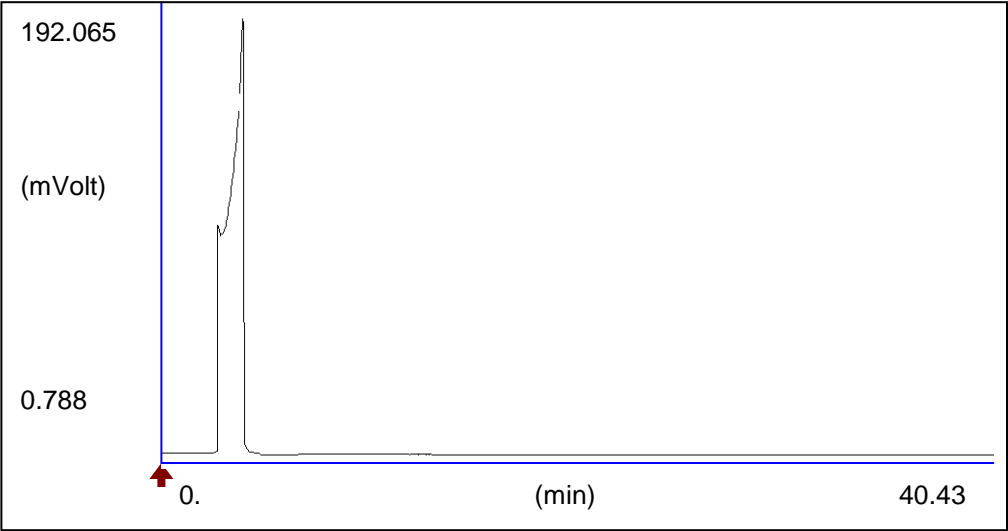
INFORMACION DEL PICO		INICIO PICO	27,31
AREA	38829	FIN PICO	27,49
CONCETRACION	112,74	TIEMPO DE RETENCION	27,575

## PRUEBA N° 10



INFORMACION DEL PICO		INICIO PICO	27,33
AREA	35971	FIN PICO	27,48
CONCETRACION	103,54	TIEMPO DE RETENCION	27,42

PRUEBA BLANCO





**TABLA DE DATOS DE LABORATORIO**

<b>ENSAYO</b>	<b>AREA DEL PICO</b>	<b>VOLUMEN DE MUESTRA PARA EXTRACCION</b>	<b>MICROLITROS DE EXTRACTO</b>	<b>MILILITROS DE EXTRACTO</b>	<b>VOLUMEN DE DICLOROMETANO ADICIONADO (ml)</b>	<b>VOLUMEN DE INYECCION (microlitros)</b>
1	37854	90	4	0,004	4	2
2	32218	90	4	0,004	4	2
3	31950	90	4	0,004	4	2
4	36670	90	4	0,004	4	2
5	35912	90	4	0,004	4	2
6	36806	90	4	0,004	4	2
7	34028	90	4	0,004	4	2
8	34889	90	4	0,004	4	2
9	38829	90	4	0,004	4	2
10	35971	90	4	0,004	4	2

---

VOLUMEN DE INYECCION (mililitros)	CONCETRACION OBTENIDA A PARTIR DE LA ECUACION (ppm)	mg EN LA DILUCION	CONCETRACION DEL EXTRACTO (ppm)	CONCETRACION DE PPIO ACTIVO DE PLAGUICIDA	% DE RECUPERACION
0,002	109,61	0,438	109605,03	344280	80%
0,002	91,46	0,366	91463,01	344280	80%
0,002	90,60	0,362	90600,33	344280	80%
0,002	105,79	0,423	105793,79	344280	80%
0,002	103,35	0,413	103353,83	344280	80%
0,002	106,23	0,425	106231,57	344280	80%
0,002	97,29	0,389	97289,32	344280	80%
0,002	100,06	0,400	100060,84	344280	80%
0,002	112,74	0,451	112743,51	344280	80%
0,002	103,54	0,414	103543,75	344280	80%

CONCETRACION REAL (ppm)	% REAL DE OBTENCION POR TCLP	CONCETRACION PPIO ACTIVO RETENIDO (ppm)	% PPIO ACTIVO RETENIDO
137006,29	39,80	207273,71	60,20
114328,77	33,21	229951,23	66,79
113250,42	32,89	231029,58	67,11
132242,24	38,41	212037,76	61,59
129192,28	37,53	215087,72	62,47
132789,46	38,57	211490,54	61,43
121611,65	35,32	222668,35	64,68
125076,05	36,33	219203,95	63,67
140929,39	40,93	203350,61	59,07
129429,68	37,59	214850,32	62,41

## **ANEXO N°6**

*MUESTRA DE CÁLCULO  
(Tabla en medio magnético)*

## MUESTRA DE CÁLCULO

1. **Microlitros de extracto:** Volumen de extracto que se utilizo para diluir.

2. **Mililitros de extracto:**

$$4\mu l \left( \frac{1ml}{1000\mu l} \right) = 0,004ml$$

3. **Volumen de diclorometano adicionado:** Volumen adicionado para la dilución.

4. **Volumen de inyección:** 2 $\mu$ l, determinados en las condiciones cromatograficas de la validación del método instrumental.

5. **Volumen de inyección en mililitros:**

$$2\mu l \left( \frac{1ml}{1000\mu l} \right) = 0,002ml$$

6. **Concentración obtenida de la ecuación:**

$y = 310,66 X + 3804,01$  Ecuación determinada por la calibración.

y = área del pico

X= concentración en ppm

$$X = \frac{37854 - 3804,1}{310,66} = 109,61 ppm$$

**7. Miligramos en la dilución:** son los miligramos de plaguicida que están presentes en la dilución inyectada.

$$\text{volumen solvente ml} * \frac{1l}{1000ml} * \text{concentración a partir de la ecuación} \frac{mg}{l} = mg \text{ de plaguicida}$$

$$4ml * \frac{1l}{1000ml} * 109,61 \frac{mg}{l} = 0,438mg$$

**8. Concentración del extracto:** concentración que se encuentra en los 4 ml del extracto diluido.

$$\frac{mg \text{ en la dilucion}}{(\text{volumen extracto ml} * \frac{1l}{1000ml})} = \text{concentración extracto ppm}$$

$$\frac{0,438 mg}{(0,004 ml * \frac{1l}{1000ml})} = 109605,03 ppm$$

**9. Concentración del principio activo:** corresponde al 57% de la concentración del plaguicida (604000 ppm) utilizado en los ensayos.

$$\text{concentración del plaguicida ppm} * 57\% = \text{concentración del Ppio activo ppm}$$

$$604000ppm * 57\% = 344280ppm$$

**10. Porcentaje de recuperación:** Es el porcentaje de recuperación en el procedimiento con diclorometano; esta definido por el método 3510C de la EPA.

**11. Concentración real:** Se define teniendo en cuenta el porcentaje de recuperación.

$$\text{concentración} = \frac{\text{concentración del extracto ppm} * 100\%}{80\%}$$
$$= \text{concentración real ppm}$$

$$\text{concentración} = \frac{\text{concentración extracto ppm} * 100\%}{80\%} = 137006,29 \text{ ppm}$$

**12. Porcentaje real de obtención por TCLP:** Es el porcentaje que corresponde a la cantidad de ingrediente activo que lixivia de la muestra analizada.

$$\% \text{ de TCLP} = \frac{\text{concentración real del extracto} * 100}{\text{concentración del Ppio activo}} = \% \text{ obtención de TCLP}$$

$$\% \text{ de TCLP} = \frac{137006,29 \text{ ppm} * 100}{344280 \text{ ppm}} = 39,80 \%$$

**13. Concentración principio activo retenido:** corresponde a la concentración equivalente al porcentaje anterior.

$$\text{concentración Ppio retenido} = \text{concentración Ppio activo ppm} - \text{concentración real ppm} = \text{ppm}$$

$$\begin{aligned}\text{concentración Ppio retenido} &= 344280 \text{ ppm} - 137006,29 \text{ ppm} \\ &= 207273,71 \text{ ppm}\end{aligned}$$

**14. Porcentaje de principio activo retenido:** Es la cantidad de ingrediente activo que no lixivia y queda retenido.

$$\% = \frac{\text{concentración ppio activo retenido ppm} * 100}{\text{concentración Ppio activo ppm}} = \% \text{ retenido}$$

$$\% = \frac{207273,71 \text{ ppm} * 100}{344280 \text{ ppm}} = 60,20 \%$$



**PROTOCOLO PARA LA IMPLEMENTACION DE LA METODOLOGIA DEL TEST TCLP**

**PPL**

Versión: 01

Pág.14

Revisión: 01

De: 15

**1**

**OBJETIVO**

Establecer el procedimiento para determinar la característica de toxicidad por lixiviación, (Test TCLP).



**2**

**ALCANCE**

En el presente protocolo para la implementación del test TcIp se establece el procedimiento del método en sustancias que contengan una característica física aceitosa similar al plaguicida con ingrediente activo malatión.

**PROTOCOLO PARA LA IMPLEMENTACION DE LA METODOLOGIA DEL TEST TCLP**

**PPL**

Versión: 01

Pág.14

Revisión: 01

De: 15

3

### TEORIA

El test TCLP, Toxicity Characteristic Leaching Procedure, es un método que se utiliza para determinar la característica de toxicidad por lixiviación de una sustancia, lo que permite establecer la movilidad de los constituyentes tóxicos.

Para implementar el test es necesario conocer el origen de la sustancia toxica, que es sometida a una separación de fases y determinación del porcentaje de solidos de la misma; en esta técnica se utilizan soluciones con las que se supone un vertido y acidos que se originan por la descomposición del residuo.

Además con ayuda de técnicas analíticas de laboratorio como la cromatografía de gases, se establece si el lixiviado contiene constituyentes tóxicos que superen la normatividad.

El procedimiento consiste básicamente en preparar la muestra para ser sometida a un proceso de agitación y extracción para ser luego analizada por medio de una técnica de laboratorio.

4

### INTERFERENCIAS

Las alteraciones que se puedan presentar durante el análisis se determinan en los métodos analíticos.

PROTOCOLO PARA LA IMPLEMENTACION DE LA METODOLOGIA DEL TEST TCLP

PPL

Versión: 01

Pág.14

Revisión: 01

De: 15

5

EQUIPOS Y MATERIALES

- ✓ **Unidad de filtración.** Debe permitir la instalación de un filtro de fibra de vidrio de mínimo 42 mm; sin embargo es recomendable usar filtros de 142 mm de diámetro, y con una capacidad de aproximadamente 1,5 litros.
- ✓ **Agitador rotatorio.** Este debe permitir una rotación total de  $30 \pm 2$  r.p.m.
- ✓ **Recipientes de extracción.** Estos recipientes son botellas que pueden tener un volumen mayor al de la mezcla que se va a extraer, pueden ser de diferentes materiales como vidrio o plástico, dependiendo de los constituyentes de la muestra.
- ✓ **Cauchos para las botellas.** Se utiliza para asegurar los recipientes de extracción a la cesta del agitador rotatorio.

- ✓ **Bomba.** Esta se utiliza para realizar filtración al vacío o ejercer presión positiva dependiendo del contenido sólidos de la muestra.
- ✓ **pHmetro.** Se recomienda que tenga una exactitud de  $\pm 0.05$  unidades de pH.
- ✓ **Balanza analítica.** Se recomienda que tenga una exactitud de  $\pm 0.01$  gramos.
- ✓ **Filtro de fibra de vidrio.** Deben ser de fibra de vidrio borosilicato y un tamaño de poros de 0.6 a 0.8 micrones ( $\mu\text{m}$ ).
- ✓ **Vidrio de reloj.** Con un diámetro adecuado para el diámetro del filtro que se utilice y para cubrir un erlenmeyer.
- ✓ **Probeta de 100 ml**
- ✓ **Erlenmeyer de 100 ml con tapón de caucho.**

**PROTOCOLO PARA LA IMPLEMENTACION DE LA METODOLOGIA DEL TEST TCLP**

**PPL**

Versión: 01

Pág.14

Revisión: 01

De: 15



- ✓ Beaker de 500 ml
- ✓ Balón aforado de 1000 ml
- ✓ Pipeta de 10 ml
- ✓ Pipeta de 1 ml
- ✓ Embudo
- ✓ Filtro de papel
- ✓ Balón de separación de 500 ml
- ✓ Balón de separación de 250 ml
- ✓ Pipeteador
- ✓ Pinzas
- ✓ Agitador magnético
- ✓ Extran neutro. Jabón para el lavado de materiales metálicos (equipo TCLP)

PROTOCOLO PARA LA IMPLEMENTACION DE LA METODOLOGIA DEL TEST TCLP

PPL

Versión: 01

Pág.14

Revisión: 01

De: 15

6

REACTIVOS

- ✓ **Agua para análisis.** (Agua grado reactivo)
- ✓ **Acido acético, CH<sub>3</sub>COOH**
- ✓ **Hidróxido de sódio 1N, NaOH**
- ✓ **Diclorometano**
- ✓ **Acetona**
- ✓ **Acido clorhídrico 1N, HCL**
- ✓ **Vaselina**

✓ **Solución sulfocrómica.** Disolver 29.8 gramos de dicromato de potasio en 500 ml de agua desionizada, agitar con agitador magnético en un balón aforado de 1000 ml y agregar 100 ml de acido sulfúrico en un baño frío, cerciorarse que el balón no se caliente y completar hasta aforar.

✓ **Solución lixivante # 1.** Adicionar 5.7 ml de CH<sub>3</sub>COOH a 500 ml de agua para análisis, añadir 64.3 ml de NaOH 1N, y diluir hasta 1 litro. La solución debe tener un pH de  $4.93 \pm 0.05$ .

✓ **Solución lixivante # 2.** Diluir 5.7 ml de CH<sub>3</sub>COOH con agua para análisis hasta 1 litro. La solución debe tener un pH de  $2.88 \pm 0.05$ .

**PROTOCOLO PARA LA IMPLEMENTACION DE LA METODOLOGIA DEL TEST TCLP**

**PPL**

Versión: 01

Pág.14

Revisión: 01

De: 15

**7**

**PROCEDIMIENTO**

El procedimiento para la aplicación de la técnica TCLP se divide en:

**7.1**

LIMPIEZA DE EQUIPOS Y  
MATERIALES

**7.2**

EVALUACIÓN PRELIMINAR

**7.2.1** Determinación del  
porcentaje de sólidos.

**7.2.2** Determinación de la  
solución lixiviante.

**7.3**

PROCEDIMIENTO PARA  
OBTENER EL EXTRACTO

**7.4**

CONTROL DE CALIDAD Y  
MANEJO DE RESIDUOS

**PROTOCOLO PARA LA IMPLEMENTACION DE LA METODOLOGIA DEL TEST TCLP**

**PPL**

Versión: 01

Pág.14

Revisión: 01

De: 15

**7.1**

**LIMPIEZA DE EQUIPOS Y MATERIALES**

La limpieza de los equipos y materiales que se van a emplear es necesaria para evitar cualquier tipo de contaminación por el uso que se haya dado anteriormente a los mismos.

**Limpieza de la  
unidad de filtración**

Lavar el aparato de agitación con agua y jabón Extran neutro cada vez que se inicie un ensayo.



**Limpieza de materiales**

El primer lavado de todos los materiales de vidrio se debe realizar con agua y jabón liquido, posteriormente lavar con solución sulfocrómica\* y retirarla solución con agua destilada; los lavados entre cada ensayo o cuando sea necesario, además de agua y jabón deben purgarse con el solvente que se este utilizando (diclorometano, acetona).

\*Preparación descrita en la sección 6. Reactivos.

PROTOCOLO PARA LA IMPLEMENTACION DE LA METODOLOGIA DEL TEST TCLP

PPL

Versión: 01

Pág.14

Revisión: 01

De: 15

7.2

EVALUACION PRELIMINAR

7.2.1

Determinación Del Porcentaje De Sólidos

**Ensamblar la unidad de filtración**

Asegurar los empaques de seguridad con vaselina, ubicar el portafiltro y el filtro en la rejilla de apoyo y colocar el vaso de la unidad asegurándola con los tornillos.



**Registro de pesos iniciales**

Registrar los pesos del filtro de fibra de vidrio, erlenmeyer que recibe el filtrado y la probeta donde se va a medir la muestra.



**Filtración de la Muestra**

Medir el equivalente en mililitros de 100 gramos de muestra teniendo en cuenta su densidad, en una probeta y transferir a la unidad de filtración, cerrar la unidad con la tapa y los tornillos para asegurarla; con ayuda de una bomba ejercer presión ubicándola en la parte superior de la unidad de filtración, cuando se observe que ya no lixivia mas muestra retirar el filtro en un vidrio de reloj del tamaño apropiado. Recibir la fase liquida que ha lixivado en un erlenmeyer, pesarlo taparlo y llevar a 4°C, hasta ser requerido.





PROTOCOLO PARA LA IMPLEMENTACION DE LA METODOLOGIA DEL TEST TCLP

PPL

Versión: 01

Pág.14

Revisión: 01

De: 15

**Secado del filtro**

Secar el filtro a una temperatura de 100 – 120 °C durante aproximadamente 2 horas o hasta que se registren pesos sucesivos iguales, registrar el peso del filtro seco.



**Determinar el porcentaje de sólidos secos.** Este porcentaje se determina mediante la siguiente ecuación:

$$\% \text{solidos secos} = \frac{\text{peso filtro seco} - \text{peso filtro tarado}}{\text{peso inicial de la muestra}} * 100$$

Se debe tener en cuenta que así como el plaguicida Malathion 57%, hay muestras que pueden tener una característica aceitosa y al determinar el porcentaje de sólidos secos se puede obtener un porcentaje mayor al 0.5% por lo que según el procedimiento de la técnica TCLP se debe considerar como un sólido, por lo tanto el filtro se debe tener en cuenta para el análisis de la muestra.

**PROTOCOLO PARA LA IMPLEMENTACION DE LA METODOLOGIA DEL TEST TCLP**

**PPL**

Versión: 01

Pág.14

Revisión: 01

De: 15

**7.2.2**

**Determinación De La Solución Lixivante**

Para determinar la solución lixivante de la fase sólida transferir en un beaker 96.5 ml de agua grado reactivo y el filtro obtenido de la filtración, después de agitar durante 5 minutos con ayuda de un agitador magnético, medir el pH si el valor es inferior a 5 usar la solución lixivante N° 1, si por el contrario es el valor superior a 5, agregar 3.5 ml de ácido clorhídrico (HCl) 1N, agitar y calentar a 50°C durante 10 minutos, luego de que se haya enfriado medir el pH si su valor es inferior a 5 usar la solución N° 1, si es superior a 5 usar la solución N° 2.

Para la fase líquida seguir el mismo procedimiento agregando del líquido filtrado el equivalente en mililitros de los 5 grs. indicados en el método.

La preparación de la solución lixivante N° 1 y 2 fue descrita anteriormente en Reactivos.



PROTOCOLO PARA LA IMPLEMENTACION DE LA METODOLOGIA DEL TEST TCLP

PPL

Versión: 01

Pág.14

Revisión: 01

De: 15

7.3

Procedimiento Para Obtener La Muestra

Una vez determinado el procedimiento para obtener el extracto que va a ser analizado, llevar a cabo los siguientes pasos.

Fase líquida:

$$pesodelliquidodeextraccion = 20 * pesodelamuestrafiltrada$$

Fase sólida:

$$pesodelliquidodeextraccion = \frac{20 * \%desolidos * pesodelresiduofiltrado}{100}$$

Repetir el procedimiento de filtración y determinación del porcentaje de sólidos ya descritos para cada ensayo, ya que este valor determinará la cantidad de solución lixivante que se debe preparar para la fase sólida.

**Determinación de la cantidad de solución lixivante**

Determinar la cantidad de solución lixivante para cada una de las fases (filtro y filtrado), mediante la siguiente ecuación.

**PROTOCOLO PARA LA IMPLEMENTACION DE LA METODOLOGIA DEL TEST TCLP**

**PPL**

Versión: 01

Pág.14

Revisión: 01

De: 15

***Agitación de la muestra***

Realizar la agitación para la fase líquida (filtrado) y sólida (filtro) por separado, agregando la cantidad de solución lixivante determinada anteriormente en las botellas de extracción con la fase correspondiente para cada una, asegurar las botellas en el agitador y realizar la agitación por  $18 \pm 2$  horas.



Al concluir las 18 horas de agitación con ayuda de un embudo y filtro de papel filtrar la solución que contiene el filtro para retirar las partes que de este se encuentran en la solución.

Mezclar la solución de la fase sólida con la solución de la fase líquida, verificar si son compatibles, es decir si no se forman fases se podrán analizar mezclándolas, de lo contrario se deben analizar por separado.

Esta solución es el extracto TCLP, que posteriormente se prepara para el análisis mediante cromatografía de gases.

PROTOCOLO PARA LA IMPLEMENTACION DE LA METODOLOGIA DEL TEST TCLP

PPL

Versión: 01

Pág.14

Revisión: 01

De: 15

7.4

Control de calidad y manejo de residuos

Se debe realizar una muestra blanco que se hace utilizando solamente la solución lixivante que se determino para la muestra, realizando el mismo procedimiento descrito anteriormente.

Las muestras se deben conservar a 4 °C, en viales debidamente identificados, además deben ser analizadas en un tiempo no superior a 60 días, además.



Los residuos se deben disponer en contenedores de tamaño suficiente que permitan la acumulación de los residuos generados en cada ensayo realizado.

Al finalizar las pruebas de laboratorio estos residuos deben ser tratados por parte de una empresa de servicios encargada del tratamiento de residuos peligrosos.

**PROTOCOLO PARA LA IMPLEMENTACION DE LA METODOLOGIA DEL TEST TCLP**

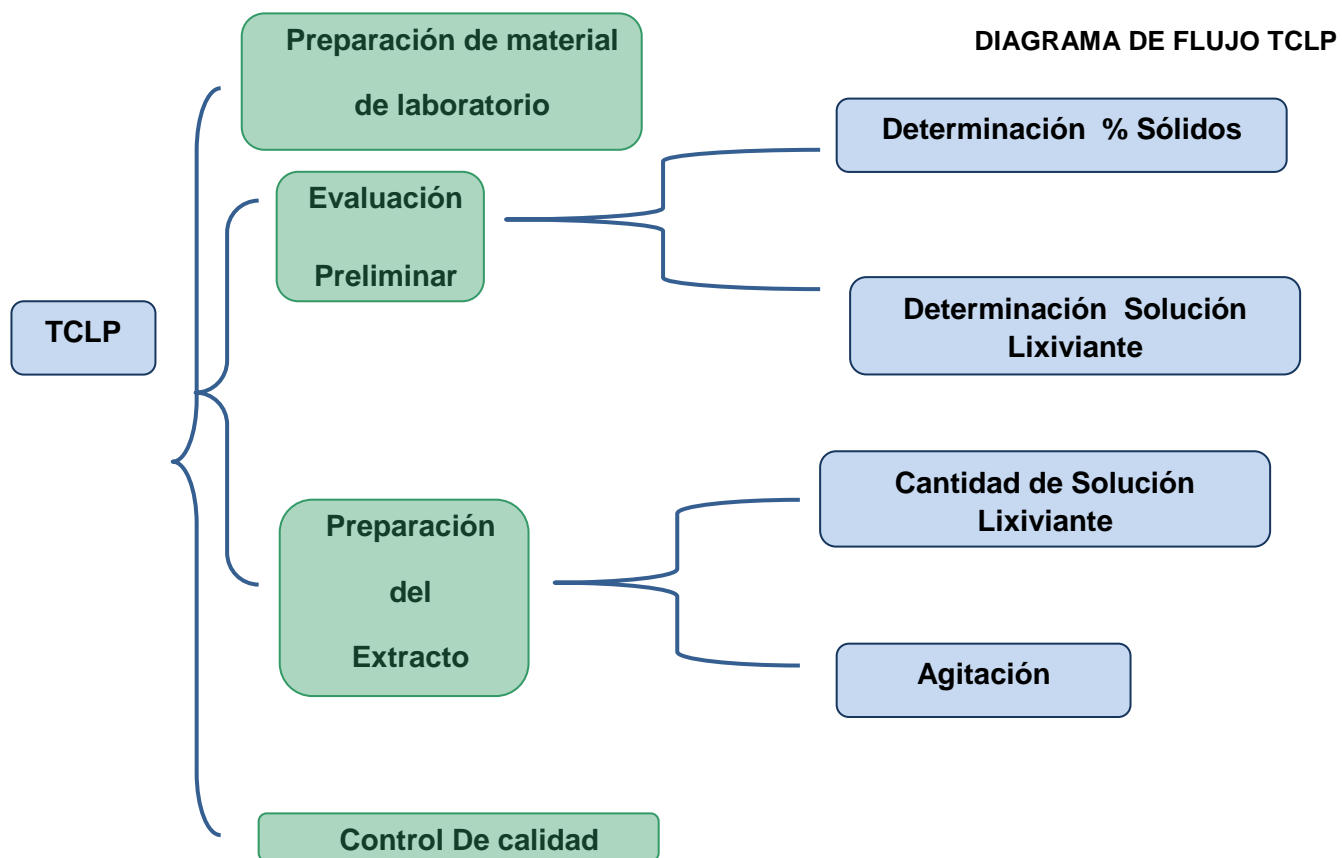
**PPL**

Versión: 01

Pág.14

Revisión: 01

De: 15



**PROTOCOLO PARA LA IMPLEMENTACION DE LA METODOLOGIA DEL TEST TCLP**

**PPL**

Versión: 01

Pág.14

Revisión: 01

De: 15



**BIBLIOGRAFIA**

Método TCLP, método 1311 de la EPA

**Elaborado por:**

Marisol Reinel Muñoz

**Fecha:**

Enero 2009

**Aprobado por:**

Rosalina González Forero – Coordinadora Laboratorio Ingeniería Ambiental

**PROTOCOLO DE CROMATOGRAFIA DE GASES PARA DETECCION DE MALATION**

**PPL**

Versión: 01

Pág. 15

Revisión: 01

De: 15

**1**

**OBJETIVO**

Establecer el procedimiento para el análisis de compuestos organofosforados como malatión.

**2**

**ALCANCE**

El presente protocolo establece el procedimiento para analizar muestras en cromatografía de gases en la identificación del ingrediente activo malatión.





**PROTOCOLO DE CROMATOGRAFIA DE GASES PARA DETECCION DE MALATION**

**PPL**

Versión: 01

Pág. 15

Revisión: 01

De: 15

**3**

**TEORIA**

La cromatografía de gases es una técnica utilizada para el análisis de diferentes muestras en la que se somete dicha muestra a una separación entre dos fases permitiendo realizar análisis que proporcionan exactitud en la determinación de concentraciones de los estudios realizados.

El protocolo presentado a continuación proporciona una guía para el manejo del cromatógrafo una vez han sido establecidas las condiciones iniciales y esta dirigido a procedimientos donde se pretenda la identificación de compuestos organofosforados el cual tiene como base el método 8141 de la EPA, adaptado a las condiciones del laboratorio de Ingeniería Ambiental De La Universidad De La Salle, es decir, donde se utiliza un detector de ionización de llama FID.

Los componentes de un cromatógrafo de gases son:

**Gas portador:** Este gas se encarga de transportar los componentes volátiles de la muestra a través de una columna.

**Sistema de inyección:** Se utiliza una microjeringa con capacidad de 10 microlitros para introducir la muestra, analito a la columna.

**Columna:** Aquí se efectúa la separación de muestras.

**Detectores:** Son dispositivos que monitorean los diferentes componentes de la muestra que se analiza.

**PROTOCOLO DE CROMATOGRAFIA DE GASES PARA DETECCION DE MALATION**

**PPL**

Versión: 01

Pág. 15

Revisión: 01

De: 15

**4**

**INTERFERENCIAS**

Las alteraciones que se puedan presentar durante el análisis se determinan en el método analítico.

**EQUIPOS , MATERIALES Y REACTIVOS**

**5**

- *Ultrasonido*, equipo para realizar el lavado de la microjeringa
- *Viales de 4 ml*
- *Viales de 2 ml*
- *Probeta de 100 ml*
- *Micro pipetas*, de diferente volumen
- *Embudo de separación de 500 ml; 250 ml*
- *Erlenmeyer de 200 ml*
- *Soportes y aros para los embudos*
- *Diclorometano  $CH_2CL_2$* , para realizar las diluciones que sean necesarias en la determinación de la concentración de las muestras que van a ser inyectadas se debe utilizar el solvente con el que se hayan preparado las soluciones en la validación del método instrumental.

**PROTOCOLO DE CROMATOGRAFIA DE GASES PARA DETECCION DE MALATION**

**PPL**

Versión: 01

Pág. 15

Revisión: 01

De: 15

**6**

**PROCEDIMIENTO**

En el procedimiento para el análisis cromatografico se debe tener en cuenta la preparación de la muestra mediante el método 3510C, extracción líquido – líquido de la EPA.

**6.1**

CONDICIONES INICIALES  
DEL CROMATOGRAFO

**6.2**

EXTRACCION  
LIQUIDO - LIQUIDO

**6.3**

ANALISIS EN EL  
CROMATOGRAFO

**6.4**

CONTROL  
DE CALIDAD



**PROTOCOLO DE CROMATOGRAFIA DE GASES PARA DETECCION DE MALATION**

**PPL**

Versión: 01

Pág. 15

Revisión: 01

De: 15



**CONDICIONES INICIALES DEL CROMATOGRAFO**

Las condiciones necesarias para el análisis de cromatografía de un compuesto organofosforado fueron establecidas en el laboratorio de ingeniería ambiental de la Universidad de la Salle, en un cromatógrafo Trace GC ultra marca Thermo finnigan con detector de ionización de llama (GC-FID), las condiciones se establecieron a partir de una solución de un patrón marca Restek que consiste en una mezcla de 15 plaguicidas organofosforados entre los que se encuentra malatión. Las características de calibración son:

**Volumen de inyección:** 2.0  $\mu$ L (modo splitless)

**Temperatura del inyector:** 250 °C

**Temperatura del detector:** 280 °C

**Gas transportador:** Nitrógeno a un flujo constante de 0.8 mL / min.

**Gas combustible:** Aire: 300 mL / min. Hidrógeno: 30 mL/min.

**Gas Make up:** Helio: 35 mL / min.

**Temperatura del horno:** inicio 60 °C durante 1 min. Luego un gradiente de 7 °C/min. hasta 210 °C y una permanencia a esta temperatura de 10 min., se realiza nuevamente un gradiente de temperatura a 5 °C/min. hasta 250 °C con una permanencia a esta temperatura de 10 min. para un tiempo total de análisis de 40 min.

**PROTOCOLO DE CROMATOGRAFIA DE GASES PARA DETECCION DE MALATION**

**PPL**

Versión: 01

Pág. 15

Revisión: 01

De: 15

**6.2**

**EXTRACCION DE LA MUESTRA**

Después de mezclar las dos soluciones y verificar que sean o no compatibles y verificar si se deben evaluar por separado o se pueden unir y extraer. Realizar la extracción mediante el método 3510C de la EPA, extracción liquido-liquido con embudo de separación, como sigue:

Tomar 90 ml de muestra y ajustar el pH de la muestra a 7, lo cual se puede realizar utilizando hidróxido de sodio (NaOH) o ácido clorhídrico (HCl).

Llevar los 90 ml de muestra a un embudo de separación que tenga una capacidad mínima de 200 ml.



Agregar 15 ml de diclorometano  $\text{CH}_2\text{CL}_2$ , y agitar el embudo abriendo la llave de paso frecuentemente para permitir la salida de gas, dejar reposar durante 10 minutos, tiempo en el cual debe observarse la separación de fases.

Retirar en un erlenmeyer la fase que se encuentra en la parte inferior del embudo.

Realizar este procedimiento dos veces más, con lo cual se agregaran 45 ml de diclorometano  $\text{CH}_2\text{CL}_2$ .



**PROTOCOLO DE CROMATOGRAFIA DE GASES PARA DETECCION DE MALATION**

**PPL**

Versión: 01

Pág. 15

Revisión: 01

De: 15

Pasar a otro embudo de separación el extracto obtenido y dejar durante 10 minutos sin agitar, esto con el fin de retirar los posibles residuos.

El líquido obtenido es el extracto que se analiza en el cromatógrafo de gases.



Una vez se haya determinado la concentración a la que se encuentra la muestra, y teniendo en cuenta las concentraciones a las que se ha realizado la validación del método instrumental, realizar las diluciones necesarias para que el resultado se encuentre en el rango de la validación, para ello utilizar la siguiente ecuación:

$$C_1V_1 = C_2V_2$$

El procedimiento de dilución se realiza con el solvente (Diclorometano  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ) y con ayuda de la micropipeta.

PROTOCOLO DE CROMATOGRAFIA DE GASES PARA DETECCION DE MALATION

PPL

Versión: 01

Pág. 15

Revisión: 01

De: 15

6.3

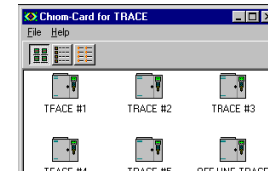
Procedimiento Para Correr La Muestra

A continuación se describe el procedimiento de operación que se debe seguir para la adquisición de datos en el cromatógrafo.

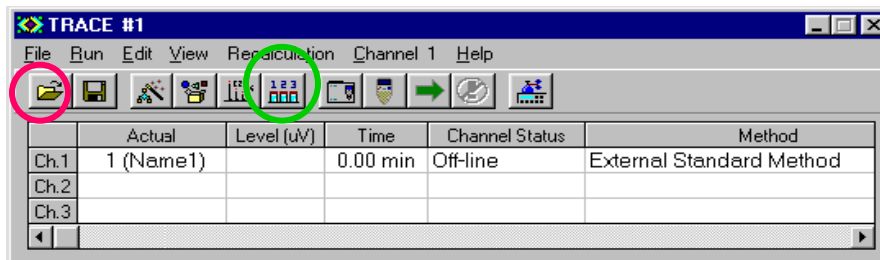
Después de encender el equipo, verificar que las válvulas de hidrogeno y aire estén abiertas y que su presión se encuentre entre 50 – 60 psi.



Abrir el *programa CHROM-CARD* y clicar en la ventana que aparece en pantalla, la opción configurada para iniciar el programa. *Trace # 1*.



Inmediatamente se abrirá la ventana con el nombre del programa correspondiente



**PROTOCOLO DE CROMATOGRAFIA DE GASES PARA DETECCION DE MALATION**


**PPL**


Versión: 01

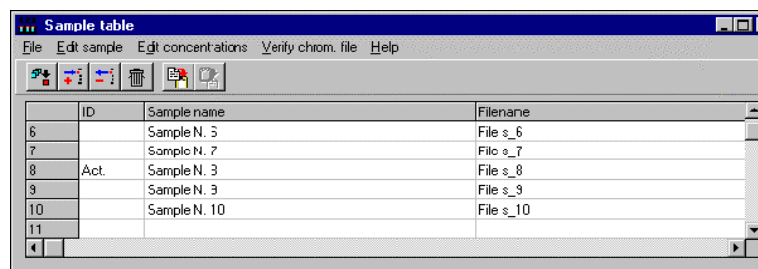
Pág. 15

Revisión: 01

De: 15

En el icono  Abrir el método correcto para el análisis de compuestos organofosforados, se visualizará un cuadro de diálogo en el que aparece el archivo correspondiente al método cargando las condiciones establecidas para el análisis.

- Abrir la *tabla de muestras*  en esta tabla es donde se puede insertar la nueva información de la muestra y se encuentra toda la información de la secuencia de las muestras.



ID	Sample name	Filename
6	Sample N. 3	File s_6
7	Sample N. 7	File s_7
8	Act. Sample N. 3	File s_8
9	Sample N. 3	File s_9
10	Sample N. 10	File s_10
11		

Clicar en la celda de la tabla en la cual se va a ingresar la información. Esta información se refiere al *Nombre de la muestra* y *Nombre del archivo*, para identificar cada ensayo analizado de la muestra y también identifique el cromatograma que genera.

*Tipo de muestra*, aparece en la pantalla un cuadro que da la opción de Standard y Unknown; aquí se debe tomar la opción Unknown ya que es una muestra desconocida a la que se quiere determinar la concentración; Además hay una columna en la que se coloca el método seleccionado para ser usado con el análisis, en la última columna de la tabla se ingresa la información de la posición del vial que contiene la muestra.



**PROTOCOLO DE CROMATOGRAFIA DE GASES PARA DETECCION DE MALATION**

**PPL**

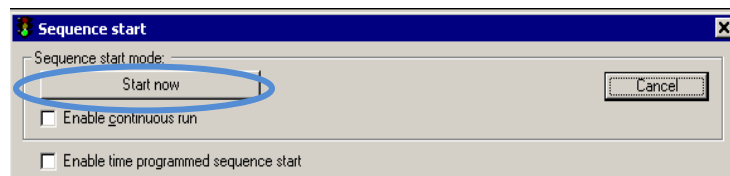
Versión: 01

Pág. 15

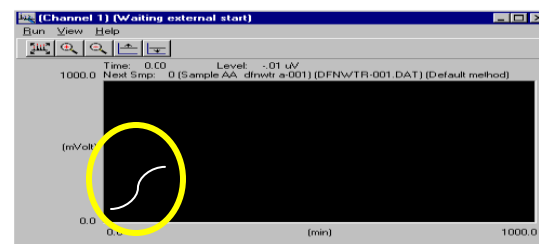
Revisión: 01


De: 15

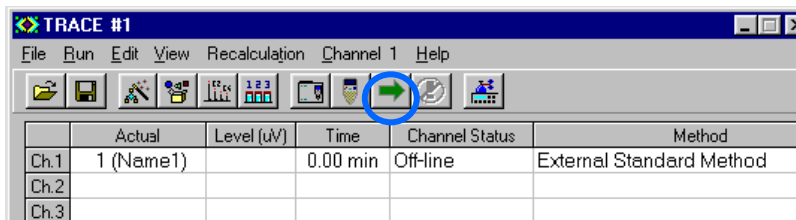
A continuación aparece una ventana para dar inicio a la secuencia, clicar en la opción de iniciar o Start now



Muestras en adquisición, es posible visualizar el proceso de adquisición de la muestra.



En seguida saldrá nuevamente el cuadro del programa correspondiente al análisis, clicar en el icono  para iniciar la corrida de secuencia de muestras ingresadas. Se inicia entonces la secuencia y termina cuando encuentra una fila vacía.



	Actual	Level (uV)	Time	Channel Status	Method
Ch.1	1 (Name1)		0.00 min	Off-line	External Standard Method
Ch.2					
Ch.3					

**PROTOCOLO DE CROMATOGRAFIA DE GASES PARA DETECCION DE MALATION**

**PPL**

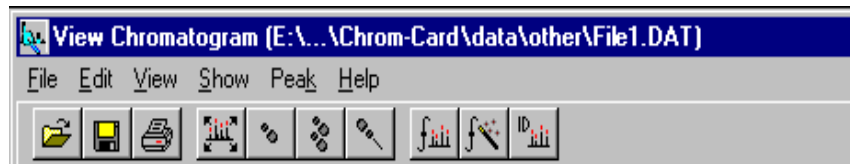
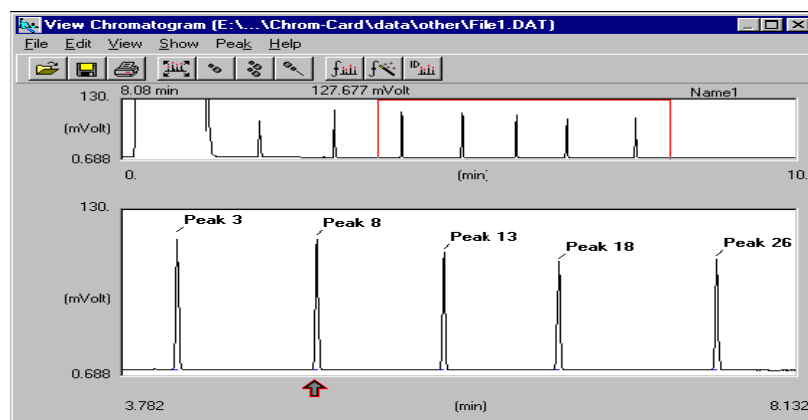
Versión: 01

Pág. 15

Revisión: 01

De: 15

Ver cromatogramas, se visualizan cuando la adquisición ha sido completada





PROTOCOLO DE CROMATOGRAFIA DE GASES PARA DETECCION DE MALATION

PPL

Versión: 01

Pág. 15

Revisión: 01

De: 15

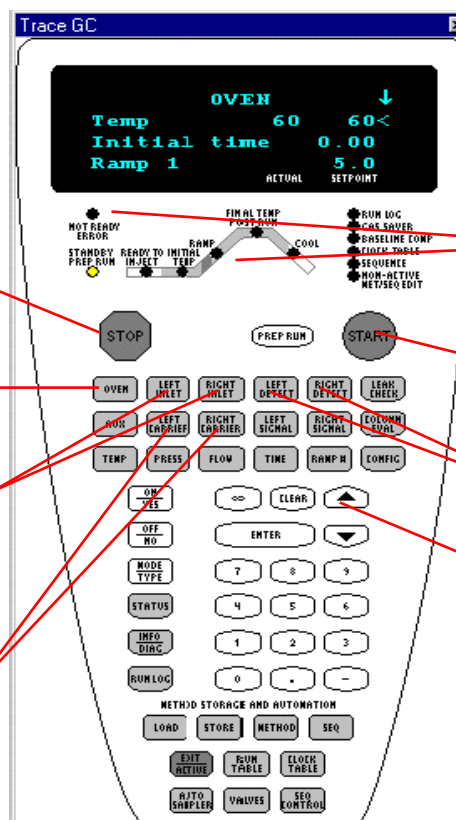
En el teclado del cromatógrafo se puede visualizar diferentes comandos entre los principales para determinar las temperaturas del horno, detector, temperatura y presión del inyector, gas de arrastre; Además se puede visualizar el recorrido de la inyección, es decir en que posición de la corrida se encuentra.

Parar la corrida

Información del horno

Información del detector

Información del detector



Indica el estado o posición de la muestra

Inicia la corrida

Información del detector

Flechas para el desplazamiento

**PROTOCOLO DE CROMATOGRAFIA DE GASES PARA DETECCION DE MALATION**

**PPL**

Versión: 01

Pág. 15

Revisión: 01

De: 15

**6.4**

**CONTROL DE CALIDAD**

- Las muestras que se han preparado para ser inyectadas se deben guardar a 4°C.
- Lavar la microjeringa introduciéndola en la probeta con una cantidad aproximada de 60 ml de Hexano.

Encender el ultrasonido programándolo a 10 minutos sin utilizar calentamiento, y ubicar la probeta dentro del equipo.

El Hexano utilizado en el lavado se puede guardar para ser utilizado en un nuevo lavado.



**PROTOCOLO DE CROMATOGRAFIA DE GASES PARA DETECCION DE MALATION**

**PPL**

Versión: 01

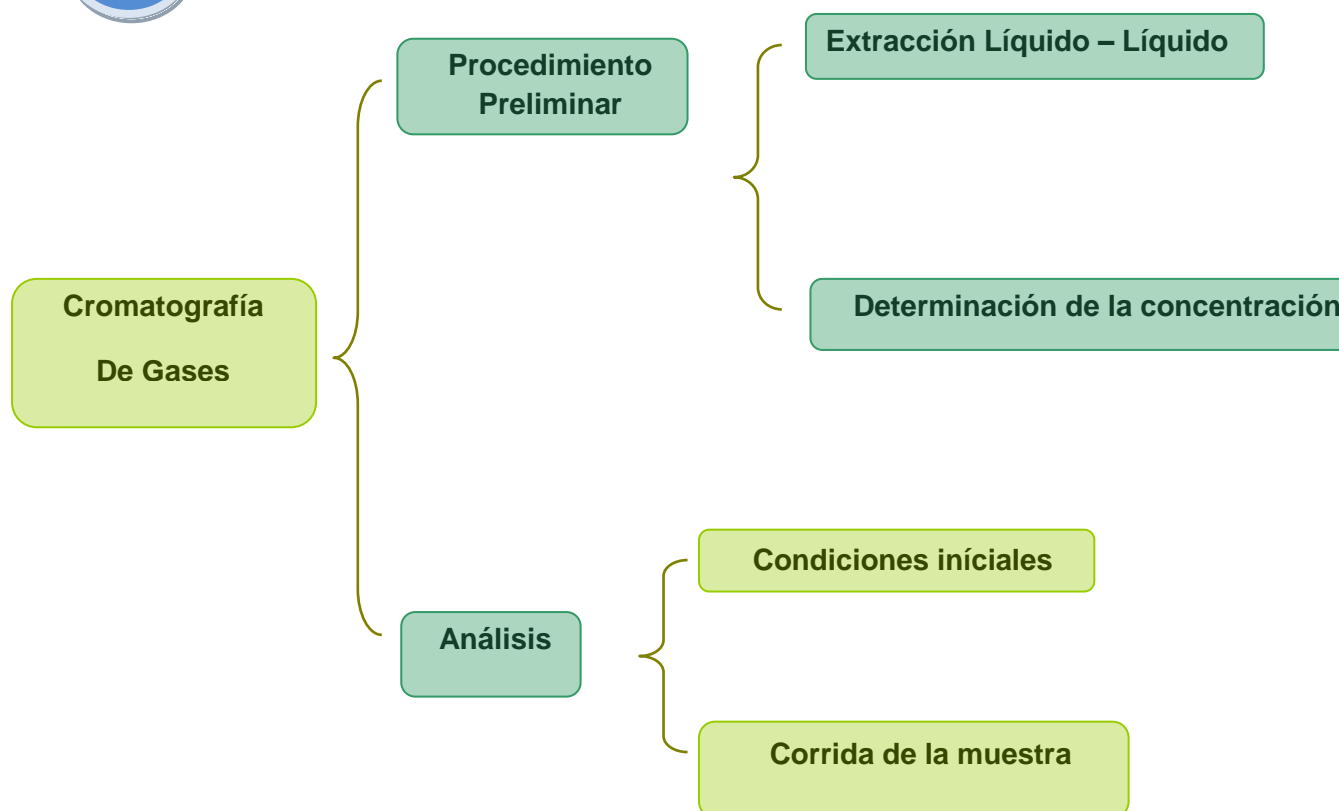
Pág. 15

Revisión: 01

De: 15

**7**

**DIAGRAMA DE FLUJO**



**PROTOCOLO DE CROMATOGRAFIA DE GASES PARA DETECCION DE MALATION**

**PPL**

Versión: 01

Pág. 15

Revisión: 01

De: 15



**BIBLIOGRAFIA**

- Método 3510 C de la EPA
- Manual de instrucciones Chorm- card s/w para el Trace de ThermoQuest Italia S.p.A. Abril 2001.
- Desarrollo y validación de un método instrumental para la determinación de clorpirifos y malatión mediante cromatografía de gases de alta resolución con detección por ionización de llama.

**Elaborado por:**

Marisol Reinel Muñoz

**Fecha:**

Enero de 2009

**Aprobado por:**

Rosalina González Forero – Coordinadora Laboratorio Ingeniería Ambiental

## METHOD 8141A

ORGANOPHOSPHORUS COMPOUNDS BY GAS CHROMATOGRAPHY:  
CAPILLARY COLUMN TECHNIQUE

## 1.0 SCOPE AND APPLICATION

1.1 Method 8141 is a capillary gas chromatographic (GC) method used to determine the concentration of organophosphorus (OP) compounds. The fused-silica, open-tubular columns specified in this method offer improved resolution, better selectivity, increased sensitivity, and faster analysis than packed columns. The compounds listed in the table below can be determined by GC using capillary columns with a flame photometric detector (FPD) or a nitrogen-phosphorus detector (NPD). Triazine herbicides can also be determined with this method when the NPD is used. Although performance data are presented for each of the listed chemicals, it is unlikely that all of them could be determined in a single analysis. This limitation results because the chemical and chromatographic behavior of many of these chemicals can result in co-elution. The analyst must select columns, detectors and calibration procedures for the specific analytes of interest in a study. Any listed chemical is a potential method interference when it is not a target analyte.

Compound Name	CAS Registry No.
OP Pesticides	
Aspon, <sup>b</sup>	3244-90-4
Azinphos-methyl	86-50-0
Azinphos-ethyl <sup>a</sup>	2642-71-9
Bolstar (Sulprofos)	35400-43-2
Carbophenothion <sup>a</sup>	786-19-6
Chlorfenvinphos <sup>a</sup>	470-90-6
Chlorpyrifos	2921-88-2
Chlorpyrifos methyl <sup>a</sup>	5598-13-0
Coumaphos	56-72-4
Crotoxyphos <sup>a</sup>	7700-17-6
Demeton-O <sup>c</sup>	8065-48-3
Demeton-S <sup>c</sup>	8065-48-3
Diazinon	333-41-5
Dichlorofenthion <sup>a</sup>	97-17-6
Dichlorvos (DDVP)	62-73-7
Dicrotophos <sup>a</sup>	141-66-2
Dimethoate	60-51-5
Dioxathion <sup>a,c</sup>	78-34-2
Disulfoton	298-04-4
EPN	2104-64-5
Ethion <sup>a</sup>	563-12-2
Ethoprop	13194-48-4
Famphur <sup>a</sup>	52-85-7
Fenitrothion <sup>a</sup>	122-14-5
Fensulfothion	115-90-2

Compound Name	CAS Registry No.
Fonophos <sup>a</sup>	944-22-9
Fenthion	55-38-9
Leptophos <sup>a,d</sup>	21609-90-5
Malathion	121-75-5
Merphos <sup>c</sup>	150-50-5
Mevinphos <sup>e</sup>	7786-34-7
Monocrotophos	6923-22-4
Naled	300-76-5
Parathion, ethyl	56-38-2
Parathion, methyl	298-00-0
Phorate	298-02-2
Phosmet <sup>a</sup>	732-11-6
Phosphamidon <sup>a</sup>	13171-21-6
Ronnel	299-84-3
Stiropfos (Tetrachlorovinphos)	22248-79-9
Sulfotepp	3689-24-5
TEPP <sup>d</sup>	21646-99-1
Terbufos <sup>a</sup>	13071-79-9
Thionazin <sup>a,b</sup> (Zinophos)	297-97-2
Tokuthion <sup>b</sup> (Protothiofos)	34643-46-4
Trichlorfon <sup>a</sup>	52-68-6
Trichloronate <sup>b</sup>	327-98-0
Industrial Chemicals	
Hexamethylphosphoramide <sup>a</sup> (HMPA)	680-31-9
Tri-o-cresylphosphate <sup>a,d</sup> (TOCP)	78-30-8
Triazine Herbicides (NPD only)	
Atrazine <sup>a</sup>	1912-24-9
Simazine <sup>a</sup>	122-34-9

- a This analyte has been evaluated using a 30-m column only.  
b Production discontinued in the U.S., standard not readily available.  
c Standards may have multiple components because of oxidation.  
d Compound is extremely toxic or neurotoxic.  
e Adjacent major/minor peaks can be observed due to cis/trans isomers.

1.2 A dual-column/dual-detector approach may be used for the analysis of relatively clean extracts. Two 15- or 30-m x 0.53-mm ID fused-silica, open-tubular columns of different polarities are connected to an injection tee and each is connected to a detector. Analysts are cautioned regarding the use of a dual column configuration when their instrument is subject to mechanical stress,



when many samples are analyzed over a short time, or when extracts of contaminated samples are analyzed.

1.3 Two detectors can be used for the listed OP chemicals. The FPD works by measuring the emission of phosphorus- or sulfur-containing species. Detector performance is optimized by selecting the proper optical filter and adjusting the hydrogen and air flows to the flame. The NPD is a flame ionization detector with a rubidium ceramic flame tip which enhances the response of phosphorus- and nitrogen-containing analytes. The FPD is more sensitive and more selective, but is a less common detector in environmental laboratories.

1.4 Table 1 lists method detection limits (MDLs) for the target analytes, using 15-m columns and FPD, for water and soil matrices. Table 2 lists the estimated quantitation limits (EQLs) for other matrices. MDLs and EQLs using 30-m columns will be very similar to those obtained from 15-m columns.

1.5 The use of a 15-m column system has not been fully validated for the determination of the following compounds. The analyst must demonstrate chromatographic resolution of all analytes, recoveries of greater than 70 percent, with precision of no more than 15 percent RSD, before data generated on the 15-m column system can be reported for these, or any additional, analytes:

Azinphos-ethyl	Ethion	Phosmet
Carbophenothion	Famphur	Phosphamidon
Chlorfenvinphos	HMPA	Terbufos
Dioxathion	Leptophos	TOCP

1.6 When Method 8141 is used to analyze unfamiliar samples, compound identifications should be supported by confirmatory analysis. Sec. 8.0 provides gas chromatograph/mass spectrometer (GC/MS) criteria appropriate for the qualitative confirmation of compound identifications.

1.7 This method is restricted to use by, or under the supervision of, analysts experienced in the use of capillary gas chromatography and in the interpretation of chromatograms.

## 2.0 SUMMARY OF METHOD

2.1 Method 8141 provides gas chromatographic conditions for the detection of ppb concentrations of organophosphorus compounds. Prior to the use of this method, appropriate sample preparation techniques must be used. Water samples are extracted at a neutral pH with methylene chloride by using a separatory funnel (Method 3510) or a continuous liquid-liquid extractor (Method 3520). Soxhlet extraction (Method 3540) or automated Soxhlet extraction (Method 3541) using methylene chloride/acetone (1:1) are used for solid samples. Both neat and diluted organic liquids (Method 3580, Waste Dilution) may be analyzed by direct injection. Spiked samples are used to verify the applicability of the chosen extraction technique to each new sample type. A gas chromatograph with a flame photometric or nitrogen-phosphorus detector is used for this multiresidue procedure.

2.2 Organophosphorus esters and thioesters can hydrolyze under both acid and base conditions. Samples prepared using acid and base partitioning procedures are not suitable for analysis by Method 8141.

2.3 Ultrasonic Extraction (Method 3550) is not an appropriate sample preparation method for Method 8141 and should not be used because of the potential for destruction of target analytes during the ultrasonic extraction process.

### 3.0 INTERFERENCES

3.1 Refer to Methods 3500, 3600, and 8000, as well as to Sec. 1.1.

3.2 The use of Florisil Cleanup (Method 3620) for some of the compounds in this method has been demonstrated to yield recoveries less than 85 percent and is therefore not recommended for all compounds. Refer to Table 2 of Method 3620 for recoveries of organophosphorus compounds. Use of an FPD often eliminates the need for sample cleanup. If particular circumstances demand the use of an alternative cleanup procedure, the analyst must determine the elution profile and demonstrate that the recovery of each analyte is not less than 85 percent.

3.3 The use of Gel Permeation Cleanup (GPC) (Method 3640) for sample cleanup has been demonstrated to yield recoveries of less than 85 percent for many method analytes because they elute before bis-(2-ethylhexyl) phthalate. Method 3640 is therefore not recommended for use with this method, unless analytes of interest are listed in Method 3640 or are demonstrated to give greater than 85 percent recovery.

3.4 Use of a flame photometric detector in the phosphorus mode will minimize interferences from materials that do not contain phosphorus or sulfur. Elemental sulfur will interfere with the determination of certain organophosphorus compounds by flame photometric gas chromatography. If Method 3660 is used for sulfur cleanup, only the tetrabutylammonium (TBA)-sulfite option should be employed, since copper and mercury may destroy OP pesticides. The stability of each analyte must be tested to ensure that the recovery from the TBA-sulfite sulfur cleanup step is not less than 85 percent.

3.5 A halogen-specific detector (i.e., electrolytic conductivity or microcoulometry) is very selective for the halogen-containing compounds and may be used for the determination of Chlorpyrifos, Ronnel, Coumaphos, Tokuthion, Trichloronate, Dichlorvos, EPN, Naled, and Stirophos only. Many of the OP pesticides may also be detected by the electron capture detector (ECD); however, the ECD is not as specific as the NPD or FPD. The ECD should only be used when previous analyses have demonstrated that interferences will not adversely effect quantitation, and that the detector sensitivity is sufficient to meet regulatory limits.

3.6 Certain analytes will coelute, particularly on 15-m columns (Table 3). If coelution is observed, analysts should (1) select a second column of different polarity for confirmation, (2) use 30-m x 0.53-mm columns, or (3) use 0.25- or 0.32-mm ID columns. See Figures 1 through 4 for combinations of compounds that do not coelute on 15-m columns.

3.7 The following pairs coeluted on the DB-5/DB-210 30-m column pair:

DB-5 Terbufos/tri-o-cresyl phosphate  
Naled/Simazine/Atrazine  
Dichlorofenthion/Demeton-0  
Trichloronate/Aspon  
Bolstar/Stiropfos/Carbophenothion  
Phosphamidon/Crotoxyphos  
Fensulfothion/EPN

DB-210 Terbufos/tri-o-cresyl phosphate  
Dichlorofenthion/Phosphamidon  
Chlorpyrifos, methyl/Parathion, methyl  
Chlorpyrifos/Parathion, ethyl  
Aspon/Fenthion  
Demeton-0/Dimethoate  
Leptophos/Azinphos-methyl  
EPN/Phosmet  
Famphur/Carbophenothion

See Table 4 for retention times of these compounds on 30-m columns.

3.8 Analytical difficulties encountered for target analytes include:

3.8.1 Tetraethyl pyrophosphate (TEPP) is an unstable diphosphate which is readily hydrolyzed in water and is thermally labile (TEPP decomposes at 170°C). Care must be taken to minimize loss during GC analysis and during sample preparation. Identification of bad standard lots is difficult since the electron impact (EI) mass spectrum of TEPP is nearly identical to its major breakdown product, triethyl phosphate.

3.8.2 The water solubility of Dichlorvos (DDVP) is 10 g/L at 20°C, and recovery is poor from aqueous solution.

3.8.3 Naled is converted to Dichlorvos (DDVP) on column by debromination. This reaction may also occur during sample workup. The extent of debromination will depend on the nature of the matrix being analyzed. The analyst must consider the potential for debromination when Naled is to be determined.

3.8.4 Trichlorfon rearranges and is dehydrochlorinated in acidic, neutral, or basic media to form Dichlorvos (DDVP) and hydrochloric acid. If this method is to be used for the determination of organophosphates in the presence of Trichlorfon, the analyst should be aware of the possibility of rearrangement to Dichlorvos to prevent misidentification.

3.8.5 Demeton (Systox) is a mixture of two compounds; 0,0-diethyl 0-[2-(ethylthio)ethyl]phosphorothioate (Demeton-0) and 0,0-diethyl S-[2-(ethylthio)ethyl]phosphorothioate (Demeton-S). Two peaks are observed in all the chromatograms corresponding to these two isomers. It is recommended that the early eluting compound (Demeton-S) be used for quantitation.

3.8.6 Dioxathion is a single-component pesticide. However, several extra peaks are observed in the chromatograms of standards. These peaks appear to be the result of spontaneous oxygen-sulfur isomerization. Because of this, Dioxathion is not included in composite standard mixtures.

3.8.7 Merphos (tributyl phosphorotrithioite) is a single-component pesticide that is readily oxidized to its phosphorotrithioate (Merphos oxone). Chromatographic analysis of Merphos almost always results two peaks (unoxidized Merphos elutes first). As the relative amounts of oxidation of the sample and the standard are probably different, quantitation based on the sum of both peaks may be most appropriate.

3.8.8 Retention times of some analytes, particularly Monocrotophos, may increase with increasing concentrations in the injector. Analysts should check for retention time shifts in highly contaminated samples.

3.8.9 Many analytes will degrade on reactive sites in the chromatographic system. Analysts must ensure that injectors and splitters are free from contamination and are silanized. Columns should be installed and maintained properly.

3.8.10 Performance of chromatographic systems will degrade with time. Column resolution, analyte breakdown and baselines may be improved by column washing (Sec. 7). Oxidation of columns is not reversible.

3.9 Method interferences may be caused by contaminants in solvents, reagents, glassware, and other sample processing hardware that lead to discrete artifacts or elevated baselines in gas chromatograms. All these materials must be routinely demonstrated to be free from interferences under the conditions of the analysis by analyzing reagent blanks (Sec. 8.0).

3.10 NP Detector interferences: Triazine herbicides, such as Atrazine and Simazine, and other nitrogen-containing compounds may interfere.

#### 4.0 APPARATUS AND MATERIALS

4.1 Gas chromatograph: An analytical system complete with a gas chromatograph suitable for on-column or split/splitless injection, and all required accessories, including syringes, analytical columns, gases, suitable detector(s), and a recording device. The analyst should select the detector for the specific measurement application, either the flame photometric detector or the nitrogen-phosphorus detector. A data system for measuring peak areas and dual display of chromatograms is highly recommended.

4.1.1 Capillary Columns (0.53-mm, 0.32-mm, or 0.25-mm ID x 15-m or 30-m length, depending on the resolution required). Columns of 0.53-mm ID are recommended for most environmental and waste analysis applications. Dual-column, single-injector analysis requires columns of equal length and bore. See Sec. 3.0 and Figures 1 through 4 for guidance on selecting the proper length and diameter for the column(s).

4.1.1.1 Column 1 - 15- or 30-m x 0.53-mm wide-bore capillary column, 1.0- $\mu$ m film thickness, chemically bonded with 50% trifluoropropyl polysiloxane, 50% methyl polysiloxane (DB-210), or equivalent.

4.1.1.2 Column 2 - 15- or 30-m x 0.53-mm wide-bore capillary column, 0.83- $\mu$ m film thickness, chemically bonded with 35% phenyl methyl polysiloxane (DB-608, SPB-608, RTx-35), or equivalent.

4.1.1.3 Column 3 - 15- or 30-m x 0.53-mm wide-bore capillary column, 1.0  $\mu$ m film thickness, chemically bonded with 5% phenyl polysiloxane, 95% methyl polysiloxane (DB-5, SPB-5, RTx-5), or equivalent.

4.1.1.4 Column 4 - 15- or 30-m x 0.53-mm ID fused-silica open-tubular column, chemically bonded with methyl polysiloxane (DB-1, SPB-1, or equivalent), 1.0- $\mu$ m or 1.5- $\mu$ m film thickness.

4.1.1.5 (optional) Column rinsing kit: Bonded-phase column rinse kit (J&W Scientific, Catalog no. 430-3000 or equivalent).

4.1.2 Splitter: If a dual-column, single-injector configuration is used, the open tubular columns should be connected to one of the following splitters, or equivalent:

4.1.2.1 Splitter 1 - J&W Scientific press-fit Y-shaped glass 3-way union splitter (J&W Scientific, Catalog no. 705-0733).

4.1.2.2 Splitter 2 - Supelco 8-in glass injection tee, deactivated (Supelco, Catalog no. 2-3665M).

4.1.2.3 Splitter 3 - Restek Y-shaped fused-silica connector (Restek, Catalog no. 20405).

4.1.3 Injectors:

4.1.3.1 Packed column, 1/4-in injector port with hourglass liner are recommended for 0.53-mm column. These injector ports can be fitted with splitters (Sec. 4.0) for dual-column analysis.

4.1.3.2 Split/splitless capillary injectors operated in the split mode are required for 0.25-mm and 0.32-mm columns.

4.1.4 Detectors:

4.1.4.1 Flame Photometric Detector (FPD) operated in the phosphorus-specific mode is recommended.

4.1.4.2 Nitrogen-Phosphorus Detector (NPD) operated in the phosphorus-specific mode is less selective but can detect triazine herbicides.

4.1.4.3 Halogen-Specific Detectors (electrolytic conductivity or microcoulometry) may be used only for a limited number of halogenated or sulfur-containing analytes (Sec. 3.0).

4.1.4.4 Electron-capture detectors may be used for a limited number of analytes (Sec. 3.0).

4.1.5 Data system:

4.1.5.1 Data system capable of presenting chromatograms, retention time, and peak integration data is strongly recommended.

4.1.5.2 Use of a data system that allows storage of raw chromatographic data is strongly recommended.

## 5.0 REAGENTS

### 5.1 Solvents

5.1.1 Isooctane,  $(\text{CH}_3)_3\text{CCH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$  - Pesticide quality or equivalent.

5.1.2 Hexane,  $\text{C}_6\text{H}_{14}$  - Pesticide quality or equivalent.

5.1.3 Acetone,  $\text{CH}_3\text{COCH}_3$  - Pesticide quality or equivalent.

5.1.4 Tetrahydrofuran (THF),  $\text{C}_4\text{H}_8\text{O}$  - Pesticide quality or equivalent (for triazine standards only).

5.1.5 Methyl *tert*-butyl-ether (MTBE),  $\text{CH}_3\text{O}t\text{-C}_4\text{H}_9$  - Pesticide quality or equivalent (for triazine standards only).

5.2 Stock standard solutions (1000 mg/L): Can be prepared from pure standard materials or can be purchased as certified solutions.

5.2.1 Prepare stock standard solutions by accurately weighing about 0.0100 g of pure compounds. Dissolve the compounds in suitable mixtures of acetone and hexane and dilute to volume in a 10-mL volumetric flask. If compound purity is 96 percent or greater, the weight can be used without correction to calculate the concentration of the stock standard solution. Commercially prepared stock standard solutions can be used at any concentration if they are certified by the manufacturer or by an independent source.

5.2.2 Both Simazine and Atrazine have low solubilities in hexane. If Simazine and Atrazine standards are required, Atrazine should be dissolved in MTBE, and Simazine should be dissolved in acetone/MTBE/THF (1:3:1).

5.2.3 Composite stock standard: This standard can be prepared from individual stock solutions. The analyst must demonstrate that the individual analytes and common oxidation products are resolved by the

chromatographic system. For composite stock standards containing less than 25 components, take exactly 1 mL of each individual stock solution at 1000 mg/L, add solvent, and mix the solutions in a 25-mL volumetric flask. For example, for a composite containing 20 individual standards, the resulting concentration of each component in the mixture, after the volume is adjusted to 25 mL, will be 40 mg/L. This composite solution can be further diluted to obtain the desired concentrations. Composite stock standards containing more than 25 components are not recommended.

5.2.4 Store the standard solutions (stock, composite, calibration, internal, and surrogate) at 4°C in Teflon-sealed containers in the dark. All standard solutions should be replaced after two months, or sooner if routine QC (Sec. 8.0) indicates a problem. Standards for easily hydrolyzed chemicals including TEPP, Methyl Parathion, and Merphos should be checked every 30 days.

5.2.5 It is recommended that lots of standards be subdivided and stored in small vials. Individual vials should be used as working standards to minimize the potential for contamination or hydrolysis of the entire lot.

5.3 Calibration standards should be prepared at a minimum of five concentrations by dilution of the composite stock standard with isooctane or hexane. The concentrations should correspond to the expected range of concentrations found in real samples and should bracket the linear range of the detector. Organophosphorus calibration standards should be replaced after one or two months, or sooner if comparison with check samples or historical data indicates that there is a problem. Laboratories may wish to prepare separate calibration solutions for the easily hydrolyzed standards identified above.

5.4 Internal standard: Internal standards should only be used on well-characterized samples by analysts experienced in the technique. Use of internal standards is complicated by co-elution of some OP pesticides and by the differences in detector response to dissimilar chemicals.

5.4.1 FPD response for organophosphorus compounds is enhanced by the presence of sulfur atoms bonded to the phosphorus atom. It has not been established that a thiophosphate can be used as an internal standard for an OP with a different numbers of sulfur atoms (e.g., phosphorothioates  $[P=S]$  as an internal standard for phosphates  $[PO_4]$ ) or phosphorodithioates  $[P=S_2]$ ).

5.4.2 If internal standards are to be used, the analyst must select one or more internal standards that are similar in analytical behavior to the compounds of interest. The analyst must further demonstrate that the measurement of the internal standard is not affected by method or matrix interferences.

5.4.3 When 15-m columns are used, it may be difficult to fully resolve internal standards from target analytes, method interferences and matrix interferences. The analyst must demonstrate that the measurement of the internal standard is not affected by method or matrix interferences.

5.4.4 The following NPD internal standard has been used for a 30-m column pair. Make a solution of 1000 mg/L of 1-bromo-2-nitrobenzene. For spiking, dilute this solution to 5 mg/L. Use a spiking volume of 10  $\mu$ L/mL of extract. The spiking concentration of the internal standards should be kept constant for all samples and calibration standards. Since its FPD response is small, 1-bromo-2-nitrobenzene is not an appropriate internal standard for that detector. No FPD internal standard is suggested.

5.5 Surrogate standard spiking solutions - The analyst should monitor the performance of the extraction, cleanup (when used), and analytical system, and the effectiveness of the method in dealing with each sample matrix, by spiking each sample, standard, and blank with one or two surrogates (e.g., organophosphorus compounds not expected to be present in the sample). If multiple analytes are to be measured, two surrogates (an early and a late eluter) are recommended. Deuterated analogs of analytes are not appropriate surrogates for gas chromatographic/FPD/NPD analysis.

5.5.1 If surrogates are to be used, the analyst must select one or more compounds that are similar in analytical behavior to the compounds of interest. The analyst must further demonstrate that the measurement of a surrogate is not affected by method or matrix interferences. General guidance on the selection and use of surrogates is provided in Sec. 5.0 of Method 3500.

5.5.2 Tributyl phosphate and triphenyl phosphate are used as FPD and NPD surrogates. A volume of 1.0 mL of a 1- $\mu$ g/L spiking solution (1 ng of surrogate) is added to each water sample and each soil/sediment sample. If there is a co-elution problem, 4-chloro-3-nitrobenzo-trifluoride has also been used as an NPD-only surrogate.

## 6.0 SAMPLE COLLECTION, PRESERVATION, AND HANDLING

6.1 See the introductory material to Chapter Four, "Organic Analytes," Sec. 4.0.

6.2 Extracts are to be refrigerated at 4°C and analyzed within 40 days of extraction. See Sec. 5.2.4 for storage of standards.

6.3 Organophosphorus esters will hydrolyze under acidic or basic conditions. Adjust samples to a pH of 5 to 8 using sodium hydroxide or sulfuric acid solution as soon as possible after sample collection. Record the volume used.

6.4 Even with storage at 4°C and use of mercuric chloride as a preservative, most OPs in groundwater samples collected for the national pesticide survey degraded within a 14-day period. Begin sample extraction within 7 days of collection.



## 7.0 PROCEDURE

### 7.1 Extraction and cleanup:

7.1.1 Refer to Chapter Two and Method 8140 for guidance on choosing the appropriate extraction procedure. In general, water samples are extracted at a neutral pH with methylene chloride, using either Method 3510 or 3520. Solid samples are extracted using either Method 3540 or 3541 with methylene chloride/acetone (1:1 v/v) or hexane/acetone (1:1 v/v) as the extraction solvent. Method 3550 is an inappropriate extraction technique for the target analytes of this method (See Sec. 2.3).

7.1.2 Extraction and cleanup procedures that use solutions below pH 4 or above pH 8 are not appropriate for this method.

7.1.3 If required, the samples may be cleaned up using the Methods presented in Chapter Four, Sec. 2. Florisil Column Cleanup (Method 3620) and Sulfur Cleanup (Method 3660, TBA-sulfite option) may have particular application for OPs. Gel Permeation Cleanup (Method 3640) should not generally be used for OP pesticides.

7.1.3.1 If sulfur cleanup by Method 3660 is required, do not use mercury or copper.

7.1.3.2 GPC may only be employed if all target OP pesticides are listed as analytes of Method 3640, or if the laboratory has demonstrated a recovery of greater than 85 percent for target OPs at a concentration not greater than 5 times the regulatory action level. Laboratories must retain data demonstrating acceptable recovery.

7.1.4 Prior to gas chromatographic analysis, the extraction solvent may be exchanged to hexane. The analyst must ensure quantitative transfer of the extract concentrate. Single-laboratory data indicate that samples should not be transferred with 100-percent hexane during sample workup, as the more polar organophosphorus compounds may be lost. Transfer of organophosphorus esters is best accomplished using methylene chloride or a hexane/acetone solvent mixture.

7.1.5 Methylene chloride may be used as an injection solvent with both the FPD and the NPD.

NOTE: Follow manufacturer's instructions as to suitability of using methylene chloride with any specific detector.

### 7.2 Gas chromatographic conditions:

7.2.1 Four 0.53-mm ID capillary columns are suggested for the determination of organophosphates by this method. Column 1 (DB-210 or equivalent) and Column 2 (SPB-608 or equivalent) of 30-m length are recommended if a large number of organophosphorus analytes are to be determined. If superior chromatographic resolution is not required, 15-m lengths columns may be appropriate. Operating conditions for 15-m columns

are listed in Table 5. Operating conditions for 30-m columns are listed in Table 6.

7.2.2 Retention times for analytes on each set of columns are presented in Tables 3 and 4.

7.3 Calibration: Refer to Method 8000 for proper calibration techniques. Use Table 5 and Table 6 for establishing the proper operating parameters for the set of columns being employed in the analyses.

7.4 Gas chromatographic analysis: Method 8000 provides instructions on the analysis sequence, appropriate dilutions, establishing daily retention time windows and identification criteria.

7.4.1 Automatic injections of 1  $\mu\text{L}$  are recommended. Hand injections of no more than 2  $\mu\text{L}$  may be used if the analyst demonstrates quantitation precision of  $\leq 10$  percent relative standard deviation. The solvent flush technique may be used if the amount of solvent is kept at a minimum. If the internal standard calibration technique is used, add 10  $\mu\text{L}$  of internal standard to each mL of sample prior to injection. Chromatograms of the target organophosphorus compounds are shown in Figures 1 through 4.

7.4.2 Figures 5 and 6 show chromatograms with and without Simazine, Atrazine, and Carbophenothion on 30-m columns.

7.5 Record the sample volume injected to the nearest 0.05  $\mu\text{L}$  and the resulting peak sizes (in area units or peak heights). Using either the internal or external calibration procedure (Method 8000), determine the identity and quantity of each component peak in the sample chromatogram which corresponds to the compounds used for calibration purposes. See Method 8000 for calculation equations.

7.5.1 If peak detection and identification is prevented by the presence of interferences, the use of an FPD or further sample cleanup is required. Before using any cleanup procedure, the analyst must process a series of calibration standards through the procedure to establish elution patterns and to determine recovery of target compounds. The absence of interference from reagents must be demonstrated by routine processing of reagent blanks through the chosen cleanup procedure. Refer to Sec. 3.0 for interferences.

7.5.2 If the responses exceed the linear range of the system, dilute the extract and reanalyze. It is recommended that extracts be diluted so that all peaks are on scale. Overlapping peaks are not always evident when peaks are off-scale. Computer reproduction of chromatograms, manipulated to ensure all peaks are on scale over a 100-fold range, are acceptable if linearity is demonstrated. Peak height measurements are recommended over peak area integration when overlapping peaks cause errors in area integration.

7.5.3 If the peak response is less than 2.5 times the baseline noise level, the validity of the quantitative result may be questionable. The

analyst should consult with the source of the sample to determine whether further concentration of the sample extract is warranted.

7.5.4 If partially overlapping or coeluting peaks are found, change columns or try a GC/MS technique. Refer to Sec. 8.0 and Method 8270.

7.6 Suggested chromatograph maintenance: Corrective measures may require any one or more of the following remedial actions.

7.6.1 Refer to Method 8000 for general information on the maintenance of capillary columns and injectors.

7.6.2 Splitter connections: For dual columns which are connected using a press-fit Y-shaped glass splitter or a Y-shaped fused-silica connector (J&W Scientific, Restek, or equivalent), clean and deactivate the splitter. Reattach the columns after cleanly cutting off at least one foot from the injection port side of the column using a capillary cutting tool or scribe. The accumulation of high boiling residues can change split ratios between dual columns and thereby change calibration factors.

7.6.3 Columns will be damaged permanently and irreversibly by contact with oxygen at elevated temperature. Oxygen can enter the column during a septum change, when oxygen traps are exhausted, through neoprene diaphragms of regulators, and through leaks in the gas manifold. Polar columns including the DB-210 and DB-608 are more prone to oxidation. Oxidized columns will exhibit baselines that rise rapidly during temperature programming.

7.6.4 Peak tailing for all components will be exacerbated by dirty injectors, pre-columns, and glass "Y"s. Additionally, cleaning of this equipment (or replacement/clipping, as appropriate) will greatly reduce the peak tailing. Components such as Fensulfothion, Naled, Azinphos-methyl, and Dimethoate are very good indicators of system performance.

7.7 Detector maintenance:

7.7.1 Older FPDs may be susceptible to stray light in the photomultiplier tube compartment. This stray light will decrease the sensitivity and the linearity of the detector. Analysts can check for leaks by initiating an analysis in a dark room and turning on the lights. A shift in the baseline indicates that light may be leaking into the photomultiplier tube compartment. Additional shielding should be applied to eliminate light leaks and minimize stray light interference.

7.7.2 The bead of the NPD will become exhausted with time, which will decrease the sensitivity and the selectivity of the detector. The collector may become contaminated which decreased detector sensitivity.

7.7.3 Both types of detectors use a flame to generate a response. Flow rates of air and hydrogen should be optimized to give the most sensitive, linear detector response for target analytes.

## 8.0 QUALITY CONTROL

8.1 Refer to Chapter One for specific quality control procedures. Include a mid-level check standard after each group of 10 samples in the analysis sequence. Quality control to validate sample extraction is covered in Method 3500 and in the extraction method utilized. If extract cleanup was performed, follow the QC in Method 3600 and in the specific cleanup method.

8.2 Procedures to check the GC system operation are found in Method 8000.

### 8.3 GC/MS confirmation

8.3.1 GC/MS techniques should be judiciously employed to support qualitative identifications made with this method. Follow the GC/MS operating requirements specified in Method 8270.

8.3.2 When available, chemical ionization mass spectra may be employed to aid in the qualitative identification process.

8.3.3 To confirm an identification of a compound, the background-corrected mass spectrum of the compound must be obtained from the sample extract and must be compared with a mass spectrum from a stock or calibration standard analyzed under the same chromatographic conditions. At least 25 ng of material should be injected into the GC/MS. The following criteria must be met for qualitative confirmation:

8.3.3.1 The qualitative identification of compounds determined by this method is based on retention time, and on comparison of the sample mass spectrum, after background correction, with characteristic ions in a reference mass spectrum. The reference mass spectrum must be generated by the laboratory using the conditions of this method. The characteristic ions from the reference mass spectrum are defined to be the three ions of greatest relative intensity, or any ions over 30% relative intensity if less than three such ions occur in the reference spectrum. Compounds should be identified as present when the criteria below are met.

8.3.3.1.1 The intensities of the characteristic ions of a compound maximize in the same scan or within one scan of each other. Selection of a peak by a data system target compound search routine where the search is based on the presence of a target chromatographic peak containing ions specific for the target compound at a compound-specific retention time will be accepted as meeting this criterion.

8.3.3.1.2 The RRT of the sample component is within  $\pm 0.06$  RRT units of the RRT of the standard component.

8.3.3.1.3 The relative intensities of the characteristic ions agree within 30% of the relative intensities of these ions in the reference spectrum. (Example: For an ion with an abundance of 50% in the

reference spectrum, the corresponding abundance in a sample spectrum can range between 20% and 80%.)

8.3.3.1.4 Structural isomers that produce very similar mass spectra should be identified as individual isomers if they have sufficiently different GC retention times. Sufficient GC resolution is achieved if the height of the valley between two isomer peaks is less than 25% of the sum of the two peak heights. Otherwise, structural isomers are identified as isomeric pairs.

8.3.3.1.5 Identification is hampered when sample components are not resolved chromatographically and produce mass spectra containing ions contributed by more than one analyte. When gas chromatographic peaks obviously represent more than one sample component (i.e., a broadened peak with shoulder(s) or a valley between two or more maxima), appropriate selection of analyte spectra and background spectra is important. Examination of extracted ion current profiles of appropriate ions can aid in the selection of spectra, and in qualitative identification of compounds. When analytes coelute (i.e., only one chromatographic peak is apparent), the identification criteria can be met, but each analyte spectrum will contain extraneous ions contributed by the coeluting compound.

8.3.3.2 For samples containing components not associated with the calibration standards, a library search may be made for the purpose of tentative identification. The necessity to perform this type of identification will be determined by the purpose of the analyses being conducted. Computer generated library search routines should not use normalization routines that would misrepresent the library or unknown spectra when compared to each other. For example, the RCRA permit or waste delisting requirements may require the reporting of nontarget analytes. Only after visual comparison of sample spectra with the nearest library searches will the mass spectral interpretation specialist assign a tentative identification. Guidelines for making tentative identification are:

(1) Relative intensities of major ions in the reference spectrum (ions > 10% of the most abundant ion) should be present in the sample spectrum.

(2) The relative intensities of the major ions should agree within  $\pm 20\%$ . (Example: For an ion with an abundance of 50% in the standard spectrum, the corresponding sample ion abundance must be between 30 and 70%.)

(3) Molecular ions present in the reference spectrum should be present in the sample spectrum.

(4) Ions present in the sample spectrum but not in the reference spectrum should be reviewed for possible background contamination or presence of coeluting compounds.

(5) Ions present in the reference spectrum but not in the sample spectrum should be reviewed for possible subtraction from the sample spectrum because of background contamination or coeluting peaks. Data system library reduction programs can sometimes create these discrepancies.

8.3.4 Where available, chemical ionization mass spectra may be employed to aid in the qualitative identification process because of the extensive fragmentation of organophosphorus pesticides during electron impact MS processes.

8.3.5 Should the MS procedure fail to provide satisfactory results, additional steps may be taken before reanalysis. These steps may include the use of alternate packed or capillary GC columns or additional sample cleanup.

## 9.0 METHOD PERFORMANCE

9.1 Estimated MDLs and associated chromatographic conditions for water and clean soil (uncontaminated with synthetic organics) are listed in Table 1. As detection limits will vary with the particular matrix to be analyzed, guidance for determining EQLs is given in Table 2. Recoveries for several method analytes are provided in Tables 5, 6, and 7.

## 10.0 REFERENCES

1. Taylor, V.; Hickey, D.M.; Marsden, P.J. "Single Laboratory Validation of EPA Method 8140"; U.S. Environmental Protection Agency, Environmental Monitoring Systems Laboratory, Office of Research and Development, Las Vegas, NV, 1987; EPA-600/4-87-009.
2. Pressley, T.A.; Longbottom, J.E. "The Determination of Organophosphorus Pesticides in Industrial and Municipal Wastewater: Method 614"; U.S. Environmental Protection Agency, Environmental Monitoring and Support Laboratory, Cincinnati, OH, 1982; EPA-600/4-82-004.
3. "Analysis of Volatile Hazardous Substances by GC/MS: Pesticide Methods Evaluation"; Letter Reports 6, 12A, and 14 to the U.S. Environmental Protection Agency on Contract 68-03-2697, 1982.
4. "Method 622, Organophosphorus Pesticides"; U.S. Environmental Protection Agency, Environmental Monitoring and Support Laboratory, Cincinnati, OH 45268.
5. Lopez-Avila, V.; Baldin, E.; Benedicto, J.; Milanes, J.; Beckert, W. F. "Application of Open-Tubular Columns to SW-846 GC Methods"; final report

to the U.S. Environmental Protection Agency on Contract 68-03-3511; Mid-Pacific Environmental Laboratory, Mountain View, CA, 1990.

6. Hatcher, M.D.; Hickey, D.M.; Marsden, P.J.; and Betowski, L.D.; "Development of a GC/MS Module for RCRA Method 8141"; final report to the U.S. EPA Environmental Protection Agency on Contract 68-03-1958; S-Cubed, San Diego, CA, 1988.
7. Chau, A.S.Y.; Afghan, B.K. *Analysis of Pesticides in Water*; "Chlorine and Phosphorus-Containing Pesticides"; CRC: Boca Raton, FL, 1982, Vol. 2, pp 91-113, 238.
8. Hild, J.; Schulte, E; Thier, H.P. "Separation of Organophosphorus Pesticides and Their Metabolites on Glass-Capillary Columns"; *Chromatographia*, 1978, 11-17.
9. Luke, M.A.; Froberg, J.E.; Doose, G.M.; Masumoto, H.T. "Improved Multiresidue Gas Chromatographic Determination of Organophosphorus, Organonitrogen, and Organohalogen Pesticides in Produce, Using Flame Photometric and Electrolytic Conductivity Detectors"; *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 1981, 1187, 64.
10. Sherma, J.; Berzosa, M. "Analysis of Pesticide Residues in Human and Environmental Samples"; U.S. Environmental Protection Agency, Research Triangle Park, NC; EPA-600/8-80-038.
11. Desmarchelier, J.M.; Wustner, D.A.; Fukuto, T.R. "Mass Spectra of Organophosphorus Esters and Their Alteration Products"; *Residue Reviews*, 1974, pp 63, 77.
12. Munch, D.J. and Frebis, C.P., "Analyte Stability Studies Conducted during the National Pesticide Survey", *ES & T*, 1992, vol 26, 921-925.
13. T.L. Jones, "Organophosphorus Pesticide Standards: Stability Study", EMSL-LV Research Report, EPA 600/X-92/040, April, 1992
14. Kotronarou, A., et al., "Decomposition of Parathion in Aqueous Solution by Ultrasonic Irradiation," *ES&T*, 1992, Vol. 26, 1460-1462.

TABLE 1  
METHOD DETECTION LIMITS IN A WATER AND A SOIL  
MATRIX USING 15-m COLUMNS AND A FLAME PHOTOMETRIC DETECTOR

Compound	Reagent	
	Water (3510) <sup>a</sup> (µg/L)	Soil (3540) <sup>b</sup> (µg/kg)
Azinphos-methyl	0.10	5.0
Bolstar (Sulprofos)	0.07	3.5
Chlorpyrifos	0.07	5.0
Coumaphos	0.20	10.0
Demeton, -O, -S	0.12	6.0
Diazinon	0.20	10.0
Dichlorvos (DDVP)	0.80	40.0
Dimethoate	0.26	13.0
Disulfoton	0.07	3.5
EPN	0.04	2.0
Ethoprop	0.20	10.0
Fensulfothion	0.08	4.0
Fenthion	0.08	5.0
Malathion	0.11	5.5
Merphos	0.20	10.0
Mevinphos	0.50	25.0
Naled	0.50	25.0
Parathion, ethyl	0.06	3.0
Parathion, methyl	0.12	6.0
Phorate	0.04	2.0
Ronnel	0.07	3.5
Sulfotepp	0.07	3.5
TEPP <sup>c</sup>	0.80	40.0
Tetrachlorovinphos	0.80	40.0
Tokuthion (Protothiofos) <sup>c</sup>	0.07	5.5
Trichloronate <sup>c</sup>	0.80	40.0

<sup>a</sup> Sample extracted using Method 3510, Separatory Funnel Liquid-Liquid Extraction.

<sup>b</sup> Sample extracted using Method 3540, Soxhlet Extraction.

<sup>c</sup> Purity of these standards not established by the EPA Pesticides and Industrial Chemicals Repository, Research Triangle Park, NC.



TABLE 2  
DETERMINATION OF ESTIMATED QUANTITATION LIMITS  
(EQLs) FOR VARIOUS MATRICES<sup>a</sup>

Matrix	Factor
Ground water (Methods 3510 or 3520)	10 <sup>b</sup>
Low-concentration soil by Soxhlet and no cleanup	10 <sup>c</sup>
Non-water miscible waste (Method 3580)	1000 <sup>c</sup>

<sup>a</sup> EQL = [Method detection limit (see Table 1)] X [Factor found in this table]. For non-aqueous samples, the factor is on a wet-weight basis. Sample EQLs are highly matrix dependent. The EQLs to be determined herein are for guidance and may not always be achievable.

<sup>b</sup> Multiply this factor times the reagent water MDL in Table 1.

<sup>c</sup> Multiply this factor times the soil MDL in Table 1.

TABLE 3.  
RETENTION TIMES FOR METHOD 8141A ANALYTES  
EMPLOYING 15-m COLUMNS

Compound	Capillary Column		
	DB-5	SPB-608	DB-210
TEPP		6.44	5.12
Dichlorvos (DDVP)	9.63	7.91	12.79
Mevinphos	14.18	12.88	18.44
Demeton, -O and -S	18.31	15.90	17.24
Ethoprop	18.62	16.48	18.67
Naled		19.01	17.40
Phorate	19.94	17.52	18.19
Monochrotophos	20.04	20.11	31.42
Sulfotepp	20.11	18.02	19.58
Dimethoate	20.64	20.18	27.96
Disulfoton	23.71	19.96	20.66
Diazinon	24.27	20.02	19.68
Merphos	26.82	21.73	32.44
Ronnel	29.23	22.98	23.19
Chlorpyrifos	31.17	26.88	25.18
Malathion	31.72	28.78	32.58
Parathion, methyl	31.84	23.71	32.17
Parathion, ethyl	31.85	27.62	33.39
Trichloronate	32.19	28.41	29.95
Tetrachlorovinphos	34.65	32.99	33.68
Tokuthion (Protothiofos)	34.67	24.58	39.91
Fensulfothion	35.85	35.20	36.80
Bolstar (Sulprofos)	36.34	35.08	37.55
Famphur*	36.40	36.93	37.86
EPN		37.80	36.71
Azinphos-methyl	38.34	38.04	37.24
Fenthion	38.83	29.45	28.86
Coumaphos	39.83	38.87	39.47

\*Method 8141A has not been fully validated for Famphur.

Initial temperature	130°C	50°C	50°C
Initial time	3 minutes	1 minute	1 minute
Program 1 rate	5°C/min	5°C/min	5°C/min
Program 1 final temp.	180°C	140°C	140°C
Program 1 hold	10 minutes	10 minutes	10 minutes
Program 2 rate	2°C/min	10°C/min	10°C/min
Program 2 final temp.	250°C	240°C	240°C
Program 2 hold	15 minutes	10 minutes	10 minutes

TABLE 4.  
RETENTION TIMES FOR METHOD 8141A ANALYTES  
EMPLOYING 30-m COLUMNS<sup>a</sup>

Compound	RT (min)			
	DB-5	DB-210	DB-608	DB-1
Trimethylphosphate	b	2.36		
Dichlorvos (DDVP)	7.45	6.99	6.56	10.43
Hexamethylphosphoramide	b	7.97		
Trichlorfon	11.22	11.63	12.69	
TEPP	b	13.82		
Thionazin	12.32	24.71		
Mevinphos	12.20	10.82	11.85	14.45
Ethoprop	12.57	15.29	18.69	18.52
Diazinon	13.23	18.60	24.03	21.87
Sulfotepp	13.39	16.32	20.04	19.60
Terbufos	13.69	18.23	22.97	
Tri-o-cresyl phosphate	13.69	18.23		
Naled	14.18	15.85	18.92	18.78
Phorate	12.27	16.57	20.12	19.65
Fonophos	14.44	18.38		
Disulfoton	14.74	18.84	23.89	21.73
Merphos	14.89	23.22		26.23
Oxidized Merphos	20.25	24.87	35.16	
Dichlorofenthion	15.55	20.09	26.11	
Chlorpyrifos, methyl	15.94	20.45	26.29	
Ronnel	16.30	21.01	27.33	23.67
Chlorpyrifos	17.06	22.22	29.48	24.85
Trichloronate	17.29	22.73	30.44	
Aspon	17.29	21.98		
Fenthion	17.87	22.11	29.14	24.63
Demeton-S	11.10	14.86	21.40	20.18
Demeton-O	15.57	17.21	17.70	
Monocrotophos <sup>c</sup>	19.08	15.98	19.62	19.3
Dimethoate	18.11	17.21	20.59	19.87
Tokuthion	19.29	24.77	33.30	27.63
Malathion	19.83	21.75	28.87	24.57
Parathion, methyl	20.15	20.45	25.98	22.97
Fenithrothion	20.63	21.42		
Chlorfenvinphos	21.07	23.66	32.05	
Parathion, ethyl	21.38	22.22	29.29	24.82
Bolstar	22.09	27.57	38.10	29.53
Stirophos	22.06	24.63	33.40	26.90
Ethion	22.55	27.12	37.61	

(continued)

TABLE 4. (Continued)

Compound	RT (min)			
	DB-5	DB-210	DB-608	DB-1
Phosphamidon	22.77	20.09	25.88	
Crotoxyphos	22.77	23.85	32.65	
Leptophos	24.62	31.32	44.32	
Fensulfothion	27.54	26.76	36.58	28.58
EPN	27.58	29.99	41.94	31.60
Phosmet	27.89	29.89	41.24	
Azinphos-methyl	28.70	31.25	43.33	32.33
Azinphos-ethyl	29.27	32.36	45.55	
Famphur	29.41	27.79	38.24	
Coumaphos	33.22	33.64	48.02	34.82
Atrazine	13.98	17.63		
Simazine	13.85	17.41		
Carbophenothion	22.14	27.92		
Dioxathion	d	d	22.24	
Trithion methyl			36.62	
Dicrotophos			19.33	
<u>Internal Standard</u>				
1-Bromo-2-nitrobenzene	8.11	9.07		
<u>Surrogates</u>				
Tributyl phosphate			11.1	
Triphenyl phosphate			33.4	
4-Cl-3-nitrobenzotrifluoride	5.73	5.40		

<sup>a</sup> The GC operating conditions were as follows:

DB-5 and DB-210 - 30-m x 0.53-mm ID column, DB-5 (1.50- $\mu$ m film thickness) and DB-210 (1.0- $\mu$ m film thickness). Both connected to a press-fit Y-shaped inlet splitter. Temperature program: 120°C (3-min hold) to 270°C (10-min hold) at 5°C/min; injector temperature 250°C; detector temperature 300°C; bead temperature 400°C; bias voltage 4.0; hydrogen gas pressure 20 psi; helium carrier gas 6 mL/min; helium makeup gas 20 mL/min.

DB-608 - 30-m x 0.53-mm ID column, DB-608 (1.50- $\mu$ m film thickness) installed in an 0.25-in packed-column inlet. Temperature program: 110°C (0.5-min hold) to 250°C (4-min hold) at 3°C/min; injector temperature 250°C; helium carrier gas 5 mL/min; flame photometric detector.

DB-1 30-m x 0.32-mm ID column, DB-1 (0.25- $\mu$ m film thickness) split/splitless with head pressure of 10 psi, split valve closure at 45 sec, injector temp. 250°C, 50°C (1-min hold) to 280°C (2-min hold) at 6°C/min, mass spectrometer full scan 35-550 amu.

<sup>b</sup> Not detected at 20 ng per injection.

<sup>c</sup> Retention times may shift to longer times with larger amounts injected (shifts of over 30 seconds have been observed, Hatcher *et. al.*)

<sup>d</sup> Shows multiple peaks; therefore, not included in the composite.

TABLE 5.  
PERCENT RECOVERY OF 27 ORGANOPHOSPHATES BY SEPARATORY FUNNEL EXTRACTION

Compound	Percent Recovery		
	Low	Medium	High
Azinphos methyl	126	143 + 8	101
Bolstar	134	141 + 8	101
Chlorpyrifos	7	89 + 6	86
Coumaphos	103	90 + 6	96
Demeton	33	67 + 11	74
Diazinon	136	121 + 9.5	82
Dichlorvos	80	79 + 11	72
Dimethoate	NR	47 + 3	101
Disulfoton	48	92 + 7	84
EPN	113	125 + 9	97
Ethoprop	82	90 + 6	80
Fensulfonfthion	84	82 + 12	96
Fenthion	NR	48 + 10	89
Malathion	127	92 + 6	86
Merphos	NR	79	81
Mevinphos	NR	NR	55
Monocrotophos	NR	18 + 4	NR
Naled	NR	NR	NR
Parathion, ethyl	101	94 + 5	86
Parathion, methyl	NR	46 + 4	44
Phorate	94	77 + 6	73
Ronnel	67	97 + 5	87
Sulfotep	87	85 + 4	83
TEPP	96	55 + 72	63
Tetrachlorvinphos	79	90 + 7	80
Tokuthion	NR	45 + 3	90
Trichloroate	NR	35	94

NR = Not recovered.

TABLE 6  
PERCENT RECOVERY OF 27 ORGANOPHOSPHATES BY CONTINUOUS LIQUID-LIQUID EXTRACTION

Compound	Percent Recovery		
	Low	Medium	High
Azinphos methyl	NR	129	122
Bolstar	NR	126	128
Chlorpyrifos	13	82 + 4	88
Coumaphos	94	79 + 1	89
Demeton	38	23 + 3	41
Diazinon	NR	128 + 37	118
Dichlorvos	81	32 + 1	74
Dimethoate	NR	10 + 8	102
Disulfoton	94	69 + 5	81
EPN	NR	104 + 18	119
Ethoprop	39	76 + 2	83
Famphur	--	63 + 15	--
Fensulfonathion	90	67 + 26	90
Fenthion	8	32 + 2	86
Malathion	105	87 + 4	86
Merphos	NR	80	79
Mevinphos	NR	87	49
Monocrotophos	NR	30	1
Naled	NR	NR	74
Parathion, ethyl	106	81 + 1	87
Parathion, methyl	NR	50 + 30	43
Phorate	84	63 + 3	74
Ronnel	82	83 + 7	89
Sulfotep	40	77 + 1	85
TEPP	39	18 + 7	70
Tetrachlorvinphos	56	70 + 14	83
Tokuthion	132	32 + 14	90
Trichloroate	NR	NR	21

NR = Not recovered.

TABLE 7.  
PERCENT RECOVERY OF 27 ORGANOPHOSPHATES BY SOXHLET EXTRACTION

Compound	Percent Recovery		
	Low	Medium	High
Azinphos methyl	156	110 $\pm$ 6	87
Bolstar	102	103 $\pm$ 15	79
Chlorpyrifos	NR	66 $\pm$ 17	79
Coumaphos	93	89 $\pm$ 11	90
Demeton	169	64 $\pm$ 6	75
Diazinon	87	96 $\pm$ 3	75
Dichlorvos	84	39 $\pm$ 21	71
Dimethoate	NR	48 $\pm$ 7	98
Disulfoton	78	78 $\pm$ 6	76
EPN	114	93 $\pm$ 8	82
Ethoprop	65	70 $\pm$ 7	75
Fensulfonthion	72	81 $\pm$ 18	111
Fenthion	NR	43 $\pm$ 7	89
Malathion	100	81 $\pm$ 8	81
Merphos	62	53	60
Mevinphos	NR	71	63
Monocrotophos	NR	NR	NR
Naled	NR	48	NR
Parathion, ethyl	75	80 $\pm$ 8	80
Parathion, methyl	NR	41 $\pm$ 3	28
Phorate	75	77 $\pm$ 6	78
Ronnel	NR	83 $\pm$ 12	79
Sulfotep	67	72 $\pm$ 8	78
TEPP	36	34 $\pm$ 33	63
Tetrachlorvinphos	50	81 $\pm$ 7	83
Tokuthion	NR	40 $\pm$ 6	89
Trichloroate	56	53	53

NR = Not recovered.

TABLE 8.

## SUGGESTED OPERATING CONDITIONS FOR 15-m COLUMNS

---

Columns 1 and 2 (DB-210 and SPB-608 or their equivalent)

Carrier gas (He) flow rate =	5 mL/min
Initial temperature =	50°C, hold for 1 minute
Temperature program =	50°C to 140°C at 5°C/min, hold for 10 minutes, followed by 140°C to 240°C at 10°C/min, hold for 10 minutes (or a sufficient amount of time for last compound to elute).

Column 3 (DB-5 or equivalent)

Carrier gas (He) flow rate =	5 mL/min
Initial temperature =	130°C, hold for 3 minutes
Temperature program =	130°C, to 180°C at 5°C/min, hold for 10 minutes, followed by 180°C to 250°C at 2°C/min, hold for 15 minutes (or a sufficient amount of time for last compound to elute).

---



TABLE 9  
SUGGESTED OPERATING CONDITIONS FOR 30-m COLUMNS

---

Column 1:

Type: DB-210  
Dimensions: 30-m x 0.53-mm ID  
Film Thickness ( $\mu\text{m}$ ): 1.0

Column 2:

Type: DB-5  
Dimensions: 30-m x 0.53-mm ID  
Film Thickness ( $\mu\text{m}$ ): 1.5

Carrier gas flowrate (mL/min): 6 (Helium)

Makeup gas flowrate (mL/min): 20 (Helium)

Temperature program: 120°C (3-min hold) to 270°C (10-min hold) at 5°C/min

Injector temperature: 250°C

Detector temperature: 300°C

Injection volume: 2  $\mu\text{L}$

Solvent: Hexane

Type of injector: Flash vaporization

Detector type: Dual NPD

Range: 1

Attenuation: 64

Type of splitter: Y-shaped or Tee

Data system: Integrator

Hydrogen gas pressure: 20 psi

Bead temperature: 400°C

Bias voltage: 4

---

TABLE 10  
QUANTITATION AND CHARACTERISTIC IONS FOR OP PESTICIDES

Compound Name	Quantitation ions	Characteristic ions
Azinphos-methyl	160	77,132
Bolstar (Sulprofos)	156	140,143,113,33
Chlorpyrifos	197	97,199,125,314
Coumaphos	109	97,226,362,21
Demeton-S	88	60,114,170
Diazinon	137	179,152,93,199,304
Dichlorvos (DDVP)	109	79,185,145
Dimethoate	87	93,125,58,143
Disulfoton	88	89,60,61,97,142
EPN	157	169,141,63,185
Ethoprop	158	43,97,41,126
Fensulfothion	293	97,125,141,109,308
Fenthion	278	125,109,93,169
Malathion	173	125,127,93,158
Merphos	209	57,153,41,298
Mevinphos	127	109,67,192
Monocrotophos	127	67,97,192,109
Naled	109	145,147,79
Parathion, ethy	1291	97,109,139,155
Parathion, methyl	109	125,263,79
Phorate	75	121,97,47,260
Ronnel	285	125,287,79,109
Stirophos	109	329,331,79
Sulfotepp	322	97,65,93,121,202
TEPP	99	155,127,81,109
Tokuthion	113	43,162,267,309

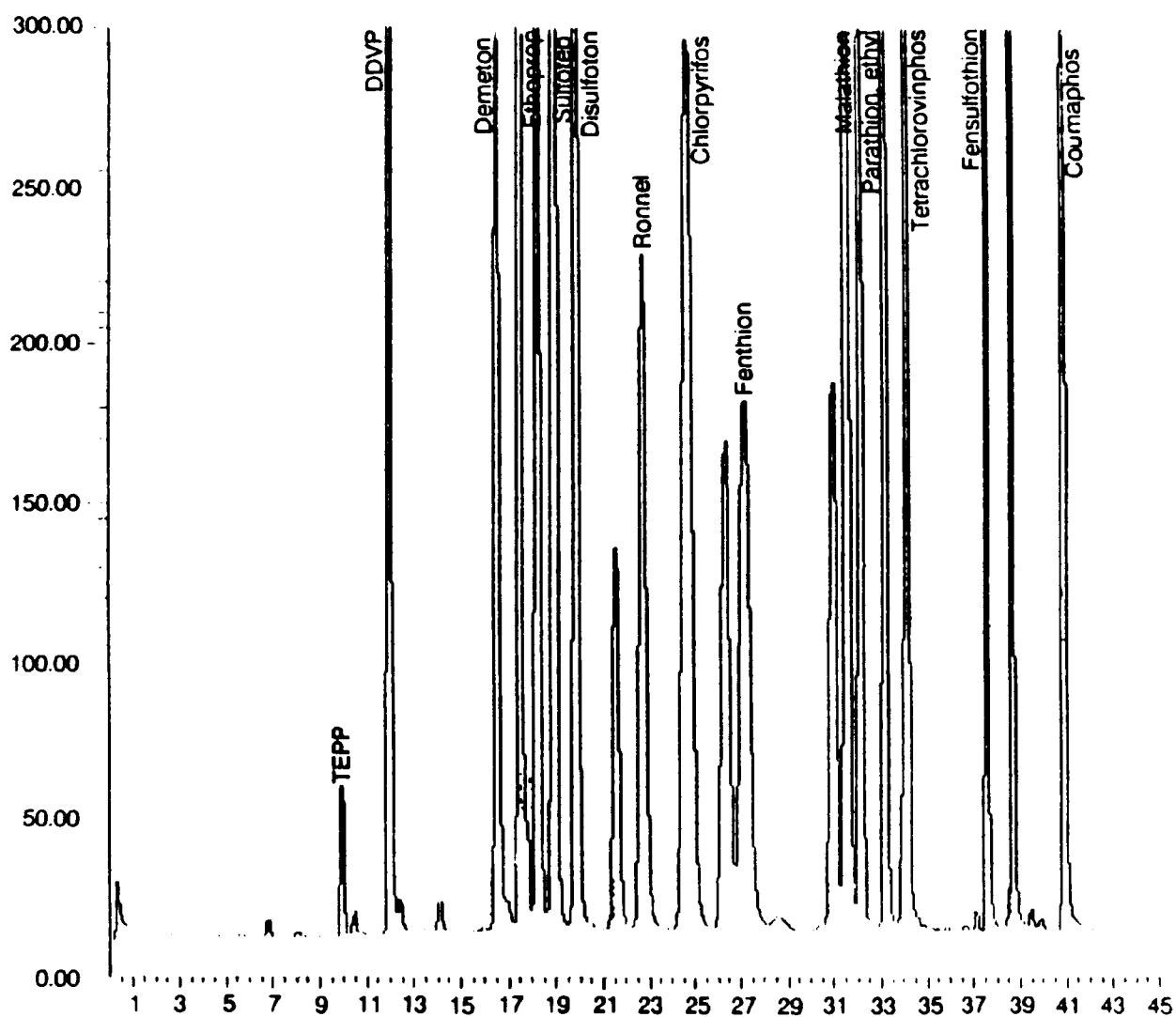


Figure 1. Chromatogram of target organophosphorus compounds from a 15-m DB-210 column with FPD detector. More compounds are shown in Figure 2. See Table 3 for retention times.

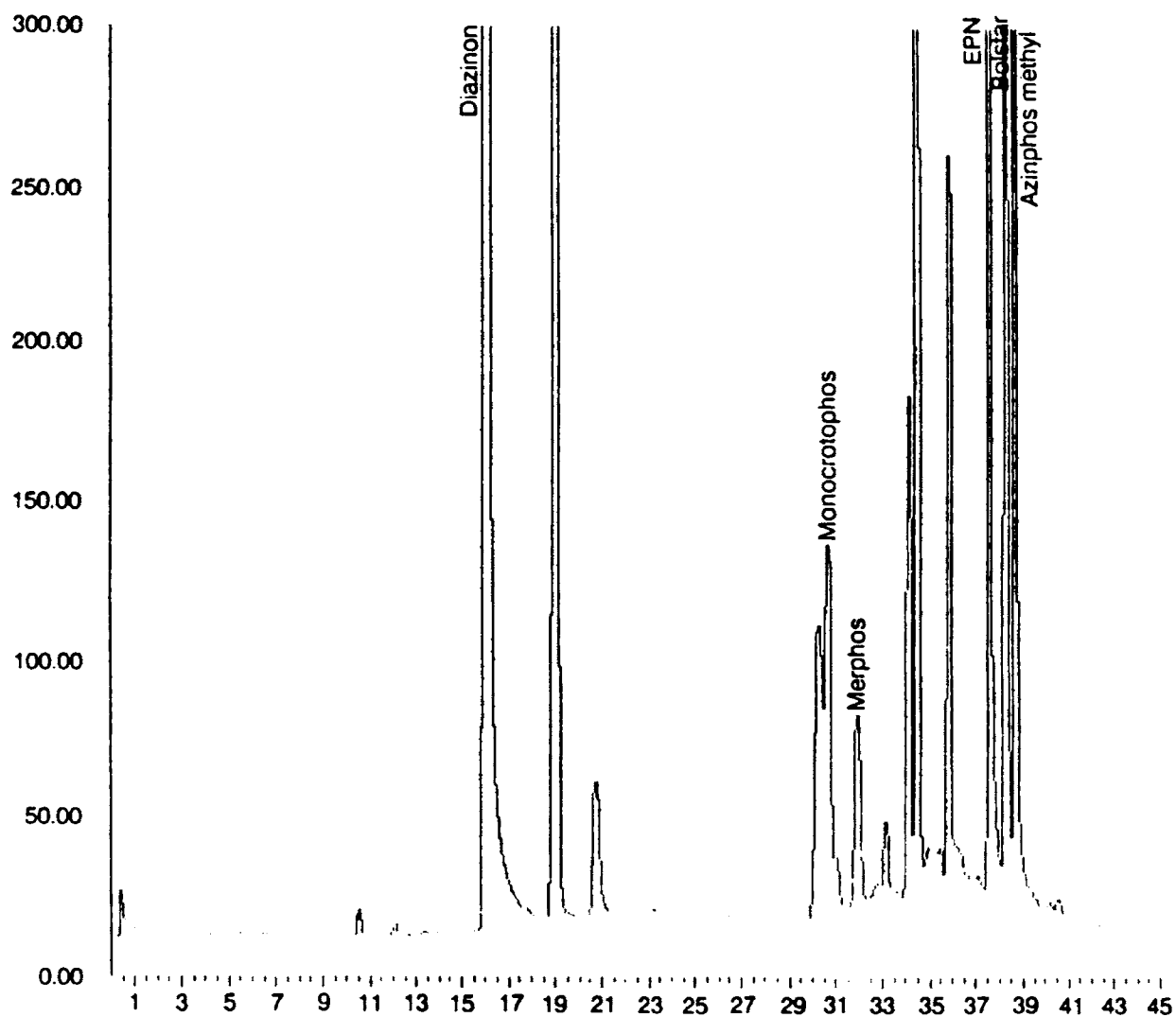


Figure 2. Chromatogram of target organophosphorus compounds from a 15-m DB-210 column with FPD detector. More compounds are shown in Figure 1. See Table 3 for retention times.

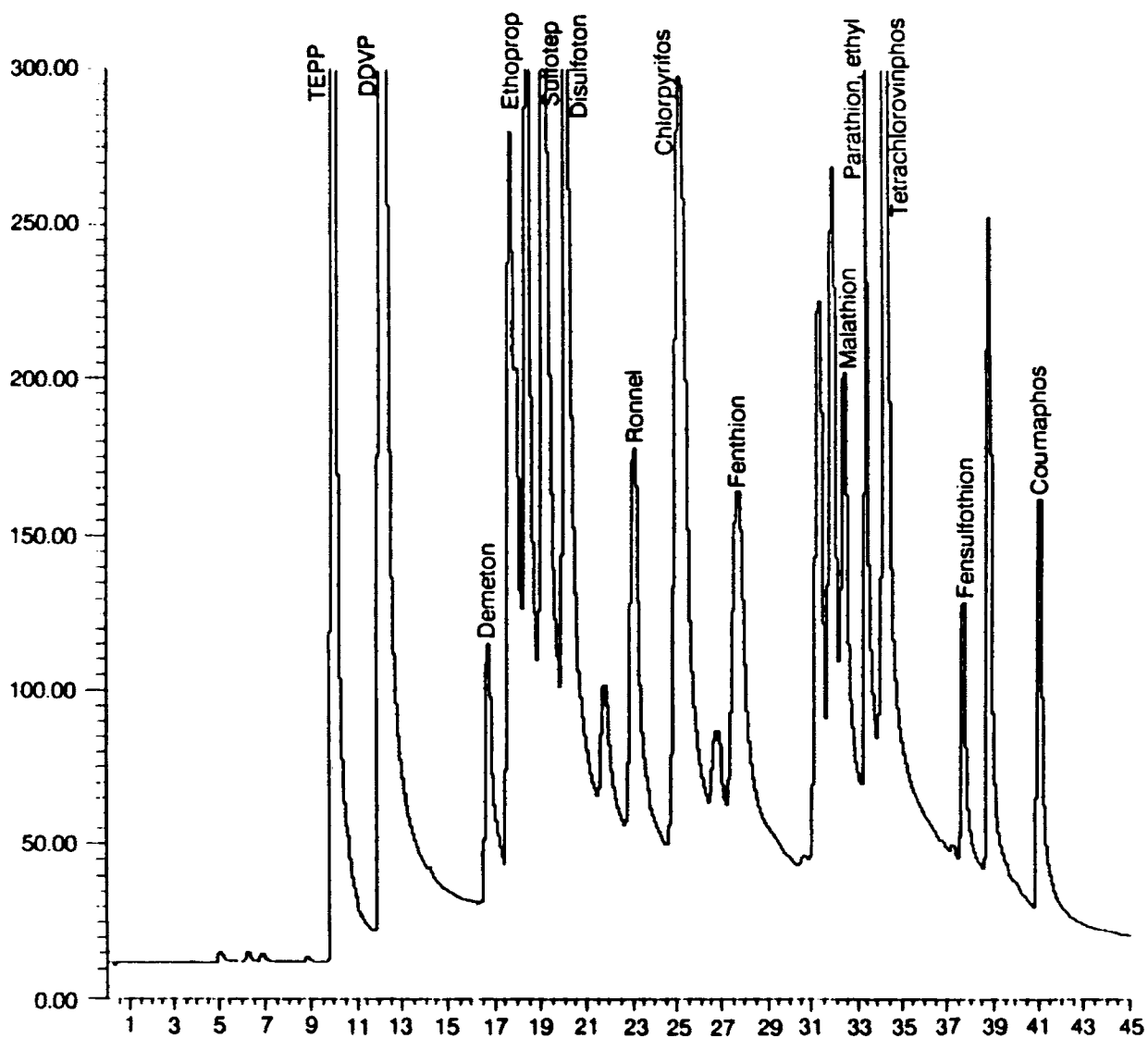


Figure 3. Chromatogram of target organophosphorus compounds from a 15-m DB-210 column with NPD detector. More compounds are shown in Figure 4. See Table 3 for retention times.

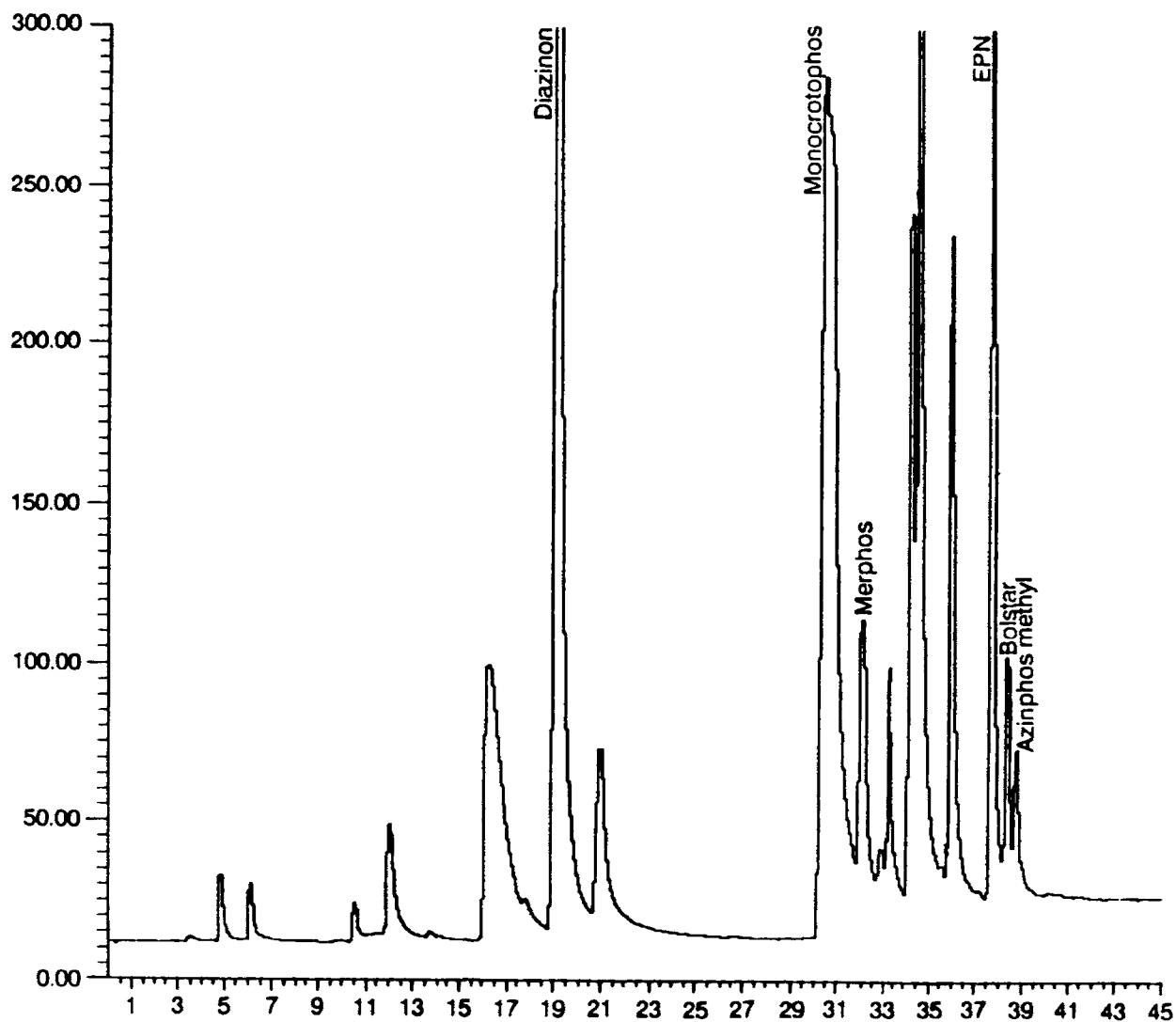


Figure 4. Chromatogram of target organophosphorus compounds from a 15-m DB-210 column with NPD detector. More compounds are shown in Figure 3. See Table 3 for retention times.

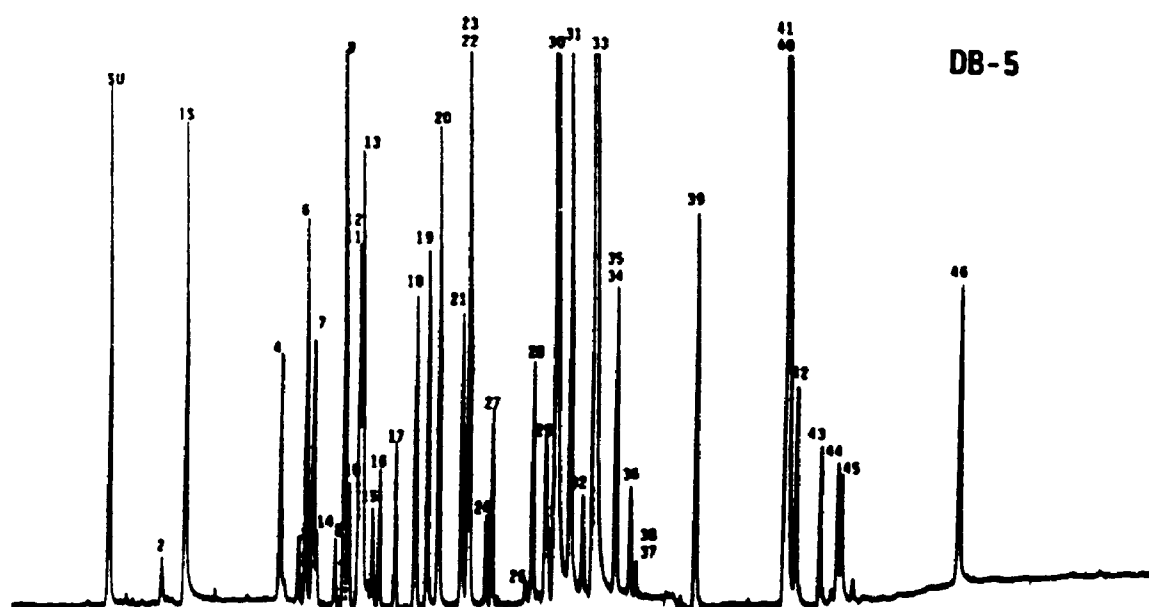
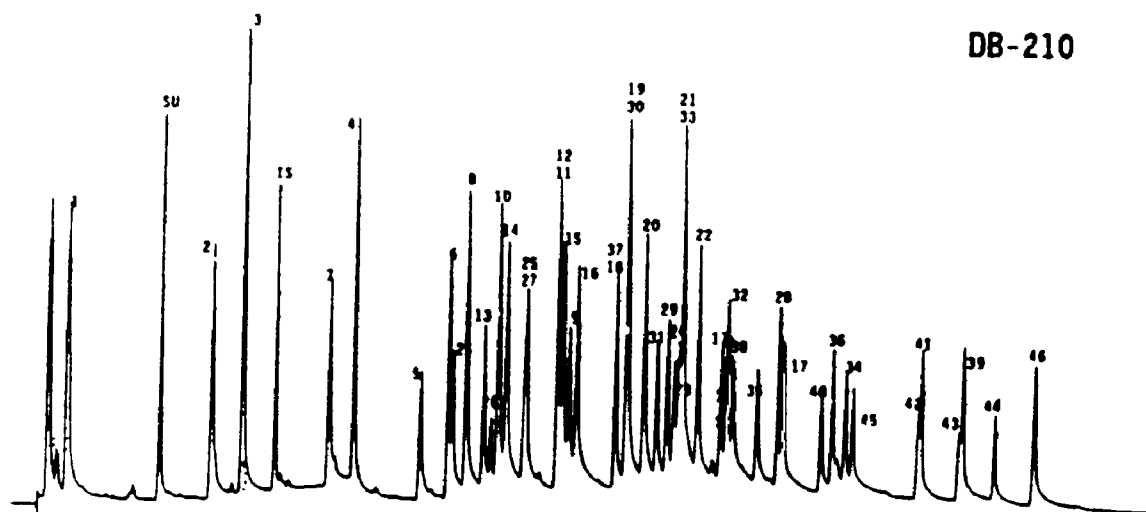


Figure 5. Chromatogram of target organophosphorus compounds on a 30-m DB-5/DB-210 column pair with NPD detector, without Simazine, Atrazine and Carbofenothion. See Table 4 for retention times and for GC operating conditions.

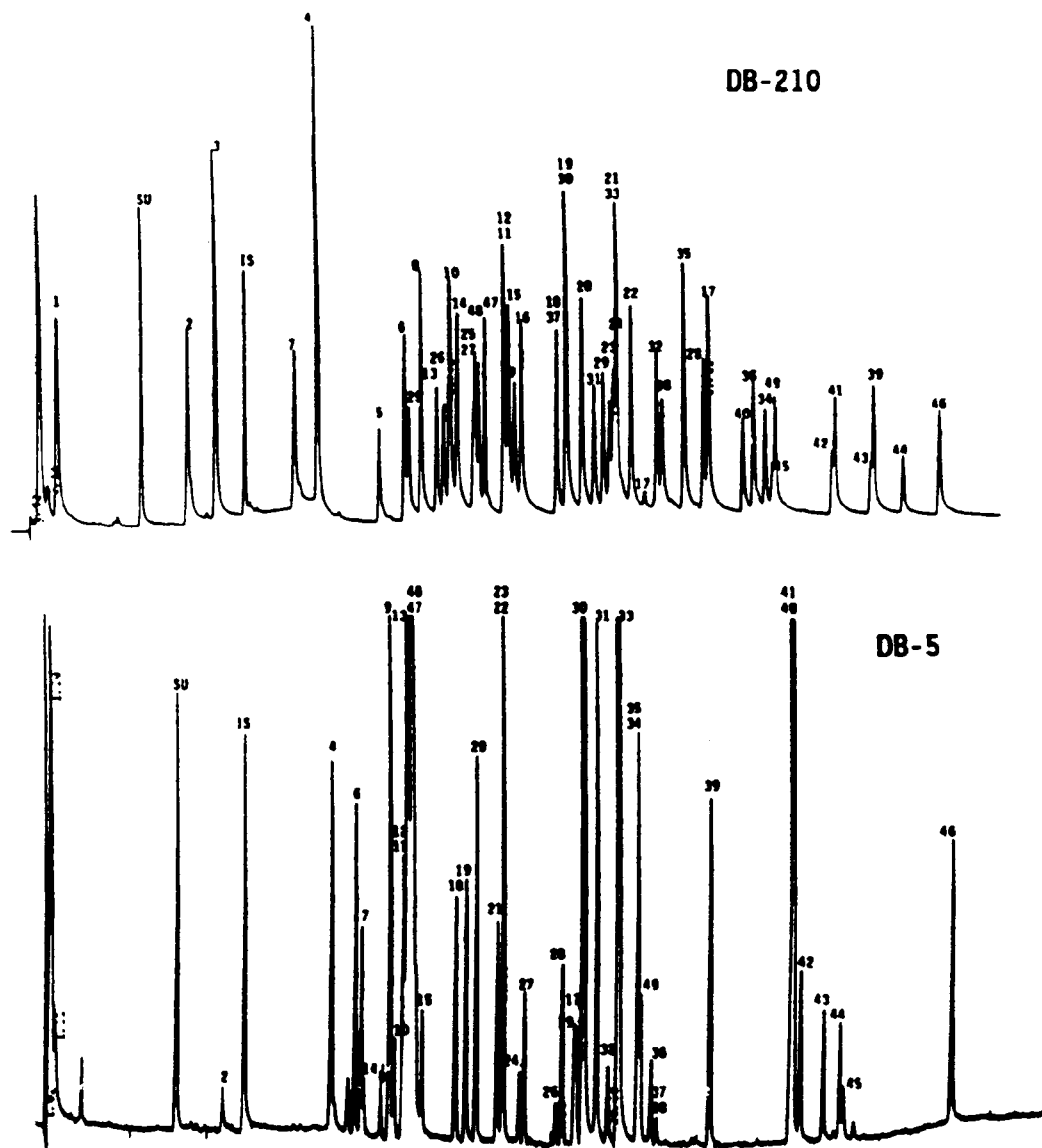


Figure 6. Chromatogram of target organophosphorus compounds on a 30-m DB-5/DB-210 column pair with NPD detector, with Simazine, Atrazine and Carbophenothion. See Table 4 for retention times and for GC operating conditions.



METHOD 8141A  
ORGANOPHOSPHORUS COMPOUNDS BY GAS CHROMATOGRAPHY:  
CAPILLARY COLUMN TECHNIQUE

