

DETERMINACIÓN DE PESTICIDAS ORGANOCORADOS EN MUESTRAS AMBIENTALES: AGUAS SUPERFICIALES Y SUELO DE DOS REGIONES AGRÍCOLAS DEL DEPARTAMENTO DEL CAUCA - COLOMBIA

Measuring organochlorine pesticides in the surface water and soil from two agricultural regions of the Department of Cauca

*Johana Marcela Sambony Ortega - Organización CARVAL. Correo electrónico:
johanamarcelasambony@gmail.com*

*Fernando José Hernández Blanco - Universidad del Cauca, Correo electrónico:
fjhernandez@unicauca.edu.co*

Resumen

Esta investigación tiene como fin realizar la estandarización de un método de cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas para la determinación de pesticidas organoclorados (POCs) que permita su separación, identificación y cuantificación en muestras ambientales de suelo y agua superficial. El método se estandarizó siguiendo los protocolos dados por el IDEAM 2006 para la estandarización de métodos analíticos. Las muestras de suelo fueron recolectadas en el Municipio de Suarez Cauca, para la determinación de POCs se desarrolló un método de extracción sólido-líquido asistido por ultrasonido y centrifugación obteniéndose porcentajes de recuperación en un rango del 41 al 55% para los pesticidas evaluados. Para las muestras acuosas se tomó agua potable de la ciudad de Popayán Cauca para las cuales se desarrolló un método de extracción en fase sólida (EFS) obteniéndose porcentajes de recuperación en un rango del 44 al 62%. En el análisis de pesticidas organoclorados para las muestras problema de suelo, no se detectó la presencia de ninguno de los POCs del estándar usado en la estandarización del método, sin embargo, en una de las muestras problema analizadas, se detecta la presencia de o-p DDE,

el cual no se pudo cuantificar ya que no se encontraba en el estándar de pesticidas utilizado, este se identificó mediante la base de datos (NIST) con un 41% de probabilidad.

Palabras clave: Pesticidas, organoclorados, Cromatografía gases-masas, extracción, cuantificación.

Abstract

This research aims to standardize a gas chromatography method coupled with mass spectrometry for the determination of organochlorine pesticides (POCs). The method allows for the separation, identification, and quantification of POCs in environmental samples of soil and surface water. The method was standardized in accordance with the protocols set forth by IDEAM (2006) for the standardization of analytical methods. The soil samples were collected in the municipality of Suárez, Cauca, for the determination of POCs. A solid-liquid extraction method assisted by ultrasound and centrifugation was developed, resulting in recovery percentages for the evaluated pesticides in a range of 41 to 55%. For the aqueous samples, drinking water was procured from the city of Popayán, Cauca. A solid phase extraction (SPE) method was then developed, resulting in recovery percentages within the range of 44 to 62%. The analysis of organochlorine pesticides in the soil samples, which were selected for further investigation due to their elevated contamination levels, did not yield any positive results for the POCs included in the standard used for method standardization. However, in one of the problematic samples analyzed, the presence of o-p DDE was detected, which could not be quantified since it was not found in the pesticide standard used. It was identified through the NIST database with a probability of 41%.

Keywords: Pesticides, organochlorines, gas-mass chromatography, extraction, quantification.

1. Introducción

El uso intensivo de pesticidas en la agricultura ha generado graves problemas de contaminación en suelos, agua y alimentos, siendo los pesticidas organoclorados (POCs) de

particular preocupación debido a su alta persistencia y capacidad de bioacumulación. Aunque muchos de estos compuestos tienen uso restringido o están prohibidos, su empleo para el control de plagas genera efectos altamente adversos en los ecosistemas, la fauna y la salud humana (Muñoz, 2012). Su toxicidad y prolongada persistencia en el ambiente han generado preocupaciones a nivel mundial, impulsando estudios sobre sus impactos y estrategias para su mitigación (Salemi et al., 2019).

La alta toxicidad de los POCs, se evidencia en su persistencia en el ambiente, la cual varía de meses a años, presentando incluso una durabilidad de hasta 25 años para su degradación a formas menos dañinas. Adicionalmente, su alta volatilidad les permite migrar a grandes distancias por aire o agua, por procesos de lixiviación, escorrentía, entre otros (Martínez y Páez, 2017). Las características propias de estos contaminantes como su naturaleza lipofílica, hidrofobicidad, su poder de bioacumulación y biomagnificación han llevado a su uso restringido y prohibición, y a que las comisiones reguladoras internacionales establezcan Límites Máximos de Residuos (LMRs).

Los pesticidas organoclorados (POCs) suelen determinarse mediante técnicas de cromatografía de gases acoplada a detección por captura de electrones (DCE) y espectrometría de masas (EM) (Salemi et al., 2019). Entre estas, la cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (CG-EM) es la más empleada para el análisis de residuos de pesticidas (Mendieta et al., 2017). Dado que los POCs se encuentran comúnmente en matrices complejas a niveles traza, es necesario un tratamiento de extracción adecuado para su determinación mediante técnicas instrumentales avanzadas (Gulbakan et al., 2008).

Existen diferentes técnicas de extracción para POCs, la Extracción Líquido-Líquido (ELL) fue la más común y la primera utilizada, sin embargo, el método más utilizado recientemente es la técnica de Extracción en Fase Sólida (EFS), obteniéndose un extracto orgánico concentrado y generalmente limpio para ser analizado directamente. La Extracción Sólido-Líquido (ESL) por su parte es uno de los métodos clásicos para la extracción de pesticidas en suelos, para lo cual se pone en contacto con un solvente o mezclas de estos, para posteriormente someterse a diferentes procesos como calentamiento, ultrasonido, agitación, entre otros.

Es importante destacar que esta investigación se realizó en la Unidad de Análisis Industrial de la Universidad del Cauca, donde no se cuenta con una metodología estandarizada para la detección de los contaminantes mencionados. Por ello, resulta fundamental disponer de metodologías analíticas sensibles y específicas que permitan la cualificación y cuantificación de pesticidas organoclorados (POCs) en suelos y aguas superficiales.

El objetivo de esta investigación es desarrollar un método analítico para la extracción, identificación y cuantificación de pesticidas organoclorados (POCs) en muestras ambientales de agua superficial y suelo. El artículo describe la aplicación de cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (CG-EM) como técnica principal para la determinación de POCs, con el fin de estandarizar y optimizar un procedimiento que permita su identificación y cuantificación en suelos y aguas superficiales de zonas agrícolas del Departamento del Cauca.

2. Marco teórico

La aplicación de pesticidas es uno de los factores de más alta influencia negativa en la biodiversidad debido a que su aplicación tiene como consecuencia la reducción del hábitat y del número de especies, generando desequilibrio y constituyendo una amenaza continua para el medio ambiente (Murillo y Salazar, 2011). Los pesticidas se eligen cada vez más de acuerdo a características, tales como: nivel de toxicidad, persistencia en las distintas fases del ambiente y problemas de salud que pueden generar (Muñoz, 2012).

Linn et al. 1993, consideran que el comportamiento de los pesticidas en el suelo está condicionado por una gran variedad de factores físicos, químicos y biológicos, incluyendo, la adsorción-desorción, solubilización, volatilización, degradación química y biológica, absorción por las plantas, lixiviación y escorrentía. Estos procesos controlan directamente el transporte de los pesticidas en el suelo y posteriormente en el agua, aire y los alimentos.

Debido al incremento en el uso de pesticidas organoclorados en el departamento del Cauca para el control y manejo de plagas en diferentes cultivos, se evidencia la necesidad de desarrollar

un método para la extracción, identificación y cuantificación de pesticidas organoclorados en muestras de aguas superficiales y suelo, de dos regiones agrícolas en la región.

Se destaca que para la determinación de pesticidas existen diversas metodologías analíticas, como las volumétricas, espectrofotométricas y cromatográficas. Entre ellas, la cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas es la técnica que ofrece mayor selectividad y alta sensibilidad para una amplia gama de analitos, permitiendo el análisis simultáneo de pesticidas con diferentes características químicas.

El Código Internacional de Conducta para la Distribución y Utilización de pesticidas de la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, en el artículo 2° define los pesticidas como “cualquier sustancia o mezcla de sustancias destinadas a prevenir, destruir o controlar cualquier plaga, incluyendo los vectores de enfermedades humanas o de animales” (FAO, 1990).

Es importante aclarar que los pesticidas se pueden clasificar de acuerdo a diferentes criterios: funcional, químico o toxicológico.

- La clasificación funcional se basa en la plaga que se desea controlar y/o sobre la que se desea actuar, se catalogan en insecticidas, herbicidas, fungicidas, acaricidas, antibióticos, rodenticidas, entre otros.
- La clasificación química o toxicológica se dividen en pesticidas: organoclorados, organofosforados, carbamatos, piretroides, triazinas, cloruros orgánicos, entre otros (Herrera, 2011). Según su toxicidad, existen varios sistemas internacionales que han desarrollado maneras de interpretar el peligro que representan los pesticidas en humanos, entre los cuales se destaca la organización mundial de la salud (OMS, 2009).

En la actualidad se utilizan cientos de pesticidas clasificados según criterios químicos o toxicológicos, su uso progresivo a nivel mundial ha conllevado a problemas que afectan el medio

ambiente y la salud humana. En el presente artículo se extrajo, identificó y cuantificó pesticidas organoclorados según su estructura química presente en muestras ambientales de suelo y agua.

2.1 Pesticidas Organoclorados

Los pesticidas organoclorados (POC's), son compuestos orgánicos persistentes, conforman un grupo de pesticidas artificiales desarrollados principalmente para controlar las poblaciones de insectos plaga. Son aquellos cuya estructura molecular incluye cadenas alifáticas, cíclicas, grupos aromáticos y al menos un átomo de cloro (Pérez, 2011).

Estos pesticidas son muy persistentes y resistentes a la degradación biológica, son compuestos orgánicos de muy baja solubilidad en agua y muy alta en grasas (liposolubles), solubles en compuestos orgánicos de baja polaridad y se degradan con dificultad por radiación solar, temperatura, humedad y procesos metabólicos (Pérez, 2011)

Actualmente los pesticidas organoclorados están prohibidos a nivel mundial y para casi todos los usos, debido a sus problemas de acumulación, alta estabilidad química y su difícil degradación biológica, así como también por ser posibles carcinogénicos.

Clasificaciones pesticidas organoclorados (POC's)

De acuerdo con Usma y Villegas (2008), dentro del grupo de pesticidas organoclorados pueden distinguirse cuatro subgrupos:

1. Derivados de hidrocarburos aromaticos: DDT y compuestos análogos, como DDE, DDD, dicofol, metoxicloro y clorobencilato).
2. Derivados de hidrocarburos alicíclicos: (Cicloalcanos clorados), como los isómeros (alfa, beta y gamma) del hexaclorociclohexano, dentro de los cuales el más conocido es el lindano (isómero gamma).

3. Derivados de hidrocarburos ciclodienicos: (Ciclodienos clorados), aldrin, dieldrin, endrin, endosulfan, mirex, clordano, heptacloro.

4. Derivados de hidrocarburos terpenicos: (terpenos clorados).

Según Aguilar (2007), las principales propiedades fisicoquímicas de los organoclorados son las siguientes: Gran estabilidad química, por una baja reactividad química; solubles en disolventes orgánicos y lípidos, insolubles en agua; Estabilidad frente al aire, la luz y el calor (algunos de ellos son sensibles a la luz U.V); Tienen estructura cíclica, una notable resistencia al ataque de los microorganismos y tienden a acumularse en el tejido graso de los organismos vivos, también se acumulan en el suelo; Resistencia a la biodegradación (son los compuestos que más persisten en el ambiente); Baja presión de vapor.

Los organoclorados son estimulantes del sistema nervioso central, donde específicamente rompen el balance de sodio-potasio que rodea la fibra nerviosa, lo que ocasiona la transmisión continua del impulso nervioso. Por otra parte, su marcada capacidad de biomagnificación tiende a acumularse en los tejidos grasos de los animales concentrándose a lo largo de la cadena trófica (Usma y Villegas, 2008).

La aplicación de pesticidas en la agricultura implica una distribución de estos en las distintas fases del ambiente: agua, aire, suelo, animales y plantas. La interacción de estos con cada una de estas fases es compleja y está controlada por numerosas reacciones físicas, químicas y biológicas (Marín, 2011).

Una vez los pesticidas se incorporan al suelo su comportamiento se ve afectado por diferentes procesos, tales como adsorción-desorción, solubilización, volatilización, degradación química y biológica, absorción por las plantas, lixiviación y escorrentía. Cada uno de estos factores varía con la naturaleza del pesticida y las propiedades del suelo. Según Navarro et al. (2007), los procesos medioambientales implicados en el comportamiento y destino de un pesticida en el suelo pueden clasificarse en tres grupos: de acumulación, eliminación y movimiento.

Los pesticidas se encuentran a niveles traza en el suelo y el agua, por lo cual se requiere de metodologías sensibles y selectivas para su extracción, determinación y cuantificación. Aunque existen diferentes metodologías analíticas, tales como volumétricas, espectrofotométricas, electroforéticas y cromatográficas. La técnica más usada actualmente en el análisis multiresidual de pesticidas es la cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (CG-MS), debido a que presenta elevada sensibilidad y selectividad en la detección de este tipo de compuestos (Ravelo, 2009).

La cromatografía de gases masas es una técnica que combina la capacidad de separación que presenta la cromatografía de gases con la sensibilidad y capacidad selectiva del detector de masas. Es una técnica muy útil en la separación, identificación y cuantificación de compuestos trazas en mezclas complejas. La separación de los diferentes analitos depende de la diferente distribución de éstos entre las fases móvil y estacionaria que conforman el sistema. Una vez separados son fragmentados y analizados en función de su patrón de fragmentación. (Mosquera, 2012).

Luego de la separación de los componentes de la muestra por el cromatógrafo las moléculas del analito son primero ionizadas para ser atraídas (o repelidas) por un campo magnético o eléctrico, el cual se consigue bombardeando las moléculas del compuesto con electrones de alta energía (70eV). La técnica de Impacto Electrónico (IE) es la más antigua, común y simple. La fuente de ionización es calentada y bajo vacío la mayoría de las muestras son fácilmente vaporizadas e ionizadas. Los electrones de alta energía golpean las moléculas neutras del analito, causando la ionización y fragmentación. Después de la ionización, las partículas cargadas son repelidas y atraídas por lentes cargados en el analizador de masas. Aquí las especies iónicas son separadas por su razón masa – carga (m/z) por cualquiera de los campos magnético o eléctrico. La magnitud de la desviación depende de la masa y velocidad de cada ión. Existen diferentes tipos de analizadores. El IE es el tipo de ionización más energético y con el que se obtienen mayores rompimientos, este modo es el más usado en el análisis de pesticidas (Ramírez, 2011).

En resumen, una vez es inyectada una mezcla de compuestos al cromatógrafo de gases, ésta se separa en sus componentes individuales en la columna cromatográfica, los cuales van

eluyendo sucesivamente hacia el espectrómetro de masas, donde se genera una señal electrónica basada en la interacción del soluto con el detector, que se registra en forma de pico cromatográfico y se identifica mediante su respectivo espectro de masas (Gutiérrez y Droguet, 2002).

La estandarización de un método analítico es un proceso riguroso que dependiendo de la técnica analítica a la que pertenezca el método, la matriz, la cantidad de parámetros de la estandarización y la logística para su desarrollo, puede requerir de un tiempo más o menos considerable (en algunos casos puede superar los seis meses). Los parámetros que sirven como criterios de confianza para el método analítico de acuerdo con el IDEAM (2006) son presentados en la siguiente tabla.

Tabla 1

Parámetros para el método analítico

Parámetro	Definición
Exactitud	Proximidad entre el valor medio obtenido de un conjunto de resultados y el valor de referencia aceptado. Se expresa en términos de error. Se tendrán como referencia los Patrones preparados en el laboratorio, y por lo menos un patrón externo certificado. La concentración de estos patrones deberá estar localizada dentro del rango de aplicación del método.
Precisión	Este valor expresa el grado de concordancia entre los resultados obtenidos para réplicas de una misma muestra, aplicando el mismo procedimiento experimental bajo condiciones previamente establecidas. Usualmente se expresa en términos de la desviación estándar (SD). Otra forma de expresarla es la desviación estándar relativa (RSD) o coeficiente de variación (CV). La precisión tiene como objetivo conocer la variabilidad del método de ensayo.
Repetibilidad	Es una medida de la precisión de datos obtenidos por un solo operador trabajando siempre en las mismas condiciones (equipos, materiales y reactivos).
Linealidad	Se refiere a la proporcionalidad entre la concentración y la señal producida por el instrumento y se debe verificar si en el laboratorio se cumple el intervalo y tipo de linealidad que reporta la literatura del método.
Sensibilidad	Es una medida del factor de respuesta del instrumento como una función de la concentración. Se mide como la pendiente de la curva de calibración. Se puede reportar como el valor promedio para las curvas obtenidas en los ensayos de estandarización y en la medición de muestras, indicando su desviación estándar.
Recuperación	Es la capacidad que tiene un procedimiento analítico para determinar cuantitativamente una especie química que ha sido adicionada a una muestra. Se expresa como porcentaje.

Nota: IDEAM (2006).

Límite de detección y cuantificación

El límite de detección se define como la mínima cantidad de analito en la muestra que se puede detectar y el límite de cuantificación como la mínima cantidad de analito que se puede cuantificar bajo ciertas condiciones experimentales (IDEAM, 2006).

El método empleado para la determinación de los límites de cuantificación (LC) y límites de detección (LD) se basó en la relación señal/ruido, el cual es el más empleado para métodos instrumentales cromatográficos. El LC se calculó para la concentración de analito que proporcione una señal 10 veces superior a la señal producida por el ruido de fondo (blanco), el LD es igual a la concentración de analito que proporcione una señal de 3 veces superior a este.

Límite de detección del método (LDM)

Concentración de analito que, cuando se procesa a través del método completo, produce una señal con una probabilidad del 99% de ser diferente del blanco (IDEAM, 2006).

Límite de detección instrumental (LDI)

Concentración de analito que produce una señal superior a cinco veces la relación señal/ruido del instrumento, se determina como 1,645 veces el valor de la desviación estándar de los análisis de blancos. Es muy útil para evaluar la concentración de analito o cantidad de un extracto necesaria para producir una señal que permita calcular un LDM estimado.

En la presente investigación para la extracción de pesticidas en suelo se realizó una extracción asistida por ultrasonido y centrifugación, y para la extracción en agua se realizó extracción en fase sólida (Mosquera, 2012).

3. Metodología

La metodología empleada en esta investigación se desarrolló en tres etapas principales: estandarización del método cromatográfico, optimización de los métodos de extracción para las matrices de suelo y agua, y la aplicación de estos métodos a muestras reales.

Estandarización del método cromatográfico: Inicialmente, se estandarizó el método para la determinación de pesticidas organoclorados mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (CG-MS). El equipo utilizado fue un cromatógrafo de gases serie 1300 de la marca Thermo Scientific, acoplado a un espectrómetro de masas con fuente de ionización por impacto electrónico y un analizador cuadrupolar. La identificación de los analitos se llevó a cabo utilizando una base de datos de espectros de masas (NIST).

Se prepararon soluciones patrón de pesticidas organoclorados con concentraciones de 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5 y 3,0 mg/L, utilizando diclorometano como solvente. Los patrones se analizaron por triplicado durante días alternados para asegurar la reproducibilidad y estabilidad del método. Además, se utilizó un estándar de referencia de pesticidas (Mix A, 500 µg/mL de cada componente en acetona, proporcionado por Supelco) para validar la curva de calibración.

Optimización de los métodos de extracción: Se optimizaron métodos específicos de extracción para las matrices de suelo y agua. En el caso de las muestras de suelo, se empleó un proceso de extracción asistida por ultrasonido, seguido de centrifugación. Para las muestras de agua, se utilizó el método de extracción en fase sólida (SPE, por sus siglas en inglés). En ambos casos, se doparon las muestras con concentraciones conocidas de pesticidas organoclorados para evaluar la eficiencia de los métodos de extracción.

El diclorometano se empleó como solvente tanto para los patrones como para las extracciones, siendo también utilizado en los blancos correspondientes para asegurar la consistencia de los resultados.

Aplicación a muestras: Los métodos de extracción optimizados se aplicaron a muestras reales de suelo y agua recolectadas en áreas previamente seleccionadas. Las muestras fueron tratadas y analizadas siguiendo los protocolos descritos, con el fin de cuantificar la presencia de pesticidas organoclorados en el ambiente.

Para la determinación de los límites de detección (LOD) y cuantificación (LOQ), se realizaron pruebas estadísticas, incluyendo el test de Shapiro-Wilk para verificar la normalidad de los datos, la prueba de Levene para evaluar la homogeneidad de varianzas, análisis de varianza (ANOVA) y pruebas post-hoc de Tukey para comparar las concentraciones de los pesticidas en las curvas de calibración. Estos análisis permitieron establecer los valores más adecuados para los LOD y LOQ de cada pesticida en las matrices estudiadas.

Tabla 2

Condiciones del método para la determinación de POC's

Parámetro	Medición
Temperatura del inyector	260 °C
Modo inyección	Splitless
Gas portador	He
Flujo	1,0 mL/min
Rampa Temperatura (Horno)	50 °C por 1 min 50°C hasta 125°C a 25°C/min 125°C hasta 300°C a 10°C/min
Columna	HP-5MS (5% polifenil, 95% polimetilsiloxano)
Volumen Inyección muestra	0,5 µL
Temperatura Línea de transferencia	220°C
Temperatura de la fuente de iones	220°C
Rango de masas (m/z)	100-400
Frente de solvente	5 min
Modo de ionización	Impacto electrónico (IE)

Nota: Elaborado por los autores.

Para la elaboración de la curva de calibración de los pesticidas organoclorados se utilizó un estándar con una mezcla de 7 pesticidas marca Supelco con código de catálogo No. 47727-U, el cual tiene una concentración de 500 µg/mL de cada componente en acetona. Con un 99% de pureza para cada elemento.

Los pesticidas objeto de análisis se enlistan en la Tabla 3 con sus respectivos números CAS, concentración y límites máximos de residuos (LMR), según la Norma de Calidad ambiental del recurso suelo y criterios de remediación para suelos contaminados, Acuerdo No 97A, FAO. Así como también los LMR para el agua en vertimientos puntuales de aguas superficiales y sistemas de alcantarillado público tomados de la Resolución 631 de 2015 del Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible.

Tabla 3

Condiciones del método para la determinación de POC's

Pesticida	No CAS	Concentración (µg/mL)	LMR (mg/kg)	LMR (mg/mL)
Simazina	122-34-9	499,0	0,2	0,002
γ-BHC	58-89-9	499,0	0,01	0,05
Alacloro	15972-60-8	501,0	0,1	0,05
Aldrin	309-00-2	501,0	0,1	0,05
trans-Nonaclor	39765-80-5	501,0	0,1	0,05
Dieldrin	60-57-1	500,0	0,1	0,05
cis-Nonaclor	5103-73-1	500,0	0,1	0,05

Nota: Elaborado por los autores con base al Acuerdo No 97^a de la FAO y la Resolución 631 de 2015 del Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible.

Extracción sólido-líquido asistida por ultrasonido y centrifugación

Metodología de Extracción: La metodología utilizada para la extracción de pesticidas organoclorados en muestras de suelo se basó en el procedimiento descrito por Mojica y Guerrero (2010), quienes analizaron 19 plaguicidas mediante doble extracción con acetato de etilo y metanol, asistida por ultrasonido. Este método fue empleado para evaluar los porcentajes de recobro en suelos con distintas características fisicoquímicas. En la adaptación del procedimiento para la presente investigación, se realizaron varias modificaciones, incluyendo el ajuste de la cantidad de muestra, el volumen de contaminante dopado y el solvente utilizado.

Procedimiento de Extracción: En esta investigación, se pesaron 3 g de suelo en un balón de fondo plano de 125 mL. Las muestras fueron dopadas con volúmenes conocidos de pesticidas a concentraciones específicas y luego dejadas en reposo durante 20 minutos para permitir la adsorción de los contaminantes. Posteriormente, se añadió un total de 20 mL de diclorometano en cuatro alícuotas de 5 mL cada una, con intervalos de 8 minutos entre cada adición, para un tiempo total de extracción de 32 minutos, asistido por ultrasonido.

Tras completar el proceso de extracción, los extractos fueron sometidos a centrifugación durante 10 minutos, filtrados a través de una membrana de fibra de 0,22 μm , y se inyectaron 0,5 μL del sobrenadante en el cromatógrafo de gases acoplado a espectrometría de masas (CG-MS) para su análisis.

Equipos Utilizados: Los equipos utilizados durante el proceso de extracción y análisis incluyeron los presentados a continuación.

Balanza analítica: Precisa XT 220a, con una capacidad de 220 g y una precisión de 0,0001 g.

Cromatógrafo de gases: Modelo TRACE 1300, acoplado con automuestreador de masas ISQLT, marca Thermo Scientific, equipado con un sistema de inyección Split/Splitless y una columna HP-5MS (0,25 mm x 30 m x 0,25 μm). La identificación de los compuestos se realizó con la base de datos de espectros de masas del Instituto Nacional de Normas y Tecnología (NIST).

Centrífuga: CLAY ADAMS® Brand.

Baño de ultrasonido: BRANSON.

Columnas para extracción en fase sólida (SPE): De plástico, con capacidad de 3 mL (Supelco).

Preparación y Dopado de Muestras: Las muestras de suelo se doparon a diferentes concentraciones de pesticidas organoclorados. Las concentraciones específicas para cada

plaguicida fueron las siguientes: Lindano y Aldrin: 0,1; 0,5 y 1,0 mg/kg. Dieldrin: 3,0; 1,0 y 2,0 mg/kg. Para las muestras de agua, las concentraciones dopadas fueron: Lindano y Aldrin: 0,1; 0,3; 0,5; 1,0 y 1,5 mg/L. Dieldrin: 0,3; 0,5; 1,0; 1,5 y 2,0 mg/L.

Estas concentraciones se emplearon para evaluar los porcentajes de recobro y la eficiencia de los métodos de extracción en las diferentes matrices.

Extracción en fase solida (SPE)

La metodología usada para esta extracción se basó en la realizada por Guerrero y Velandia (2014), quienes realizaron una comparación de dos metodologías de extracción para la determinación de 50 plaguicidas de diferentes familias químicas, ampliamente utilizados en Colombia. Cabe resaltar que se realizaron modificaciones para realizar esta extracción, tales como volumen de solvente para acondicionamiento y que no se usó vacío en la adición de la muestra.

Esta extracción se realizó en cartuchos para extracción en fase solida C-18 de 3 mL marca Supelco con 500 mg de adsorbente marca Superclean, inicialmente se acondiciono la columna con 6 mL de metanol y 6 mL de agua Tipo I, luego la muestra contaminada se pasa a través de los cartuchos, una vez se pasa la totalidad de la muestra se seca el cartucho durante 10 min en una corriente de N₂, por último se eluye con 3 volúmenes de 2 mL de diclorometano, se concentra y se transfiere a un balón aforado de 2 mL con diclorometano y se inyecta 0,5 µL al CG-MS.

Aplicación en muestras reales

Las muestras reales de suelo fueron tomadas en el municipio de Suarez, Cauca a una profundidad de 0-20 cm de la capa superficial del suelo. Para las muestras acuosas se tomó agua potable (de grifo) del municipio de Popayán, Cauca, esto debido a que no se contaba con una fuente de agua superficial que tuviera la suficiente contaminación por el uso de pesticidas, y que a su vez la presencia de otras sustancias en dichas aguas tales como metales pesados, sustancias tensioactivas, abonos, desechos orgánicos, entre otros que aportan para que el grado de contaminación sea elevado, causaría mayores interferencias a la hora de determinar los pesticidas

organoclorados, razón por la cual se tomó como blanco agua de grifo, y se contaminó para la optimización de la extracción de pesticidas en muestras acuosas.

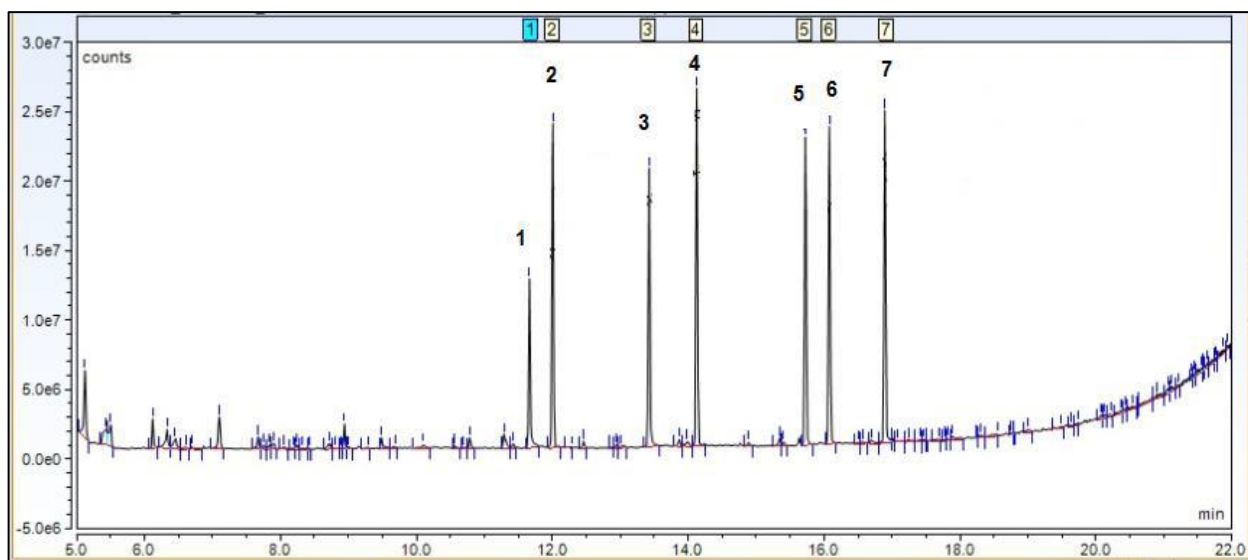
4. Resultados y discusión.

Se hizo un barrido completo para un patrón de 2 µg/mL, donde se pudo identificar 7 picos pertenecientes al estándar de pesticidas organoclorados mezcla A marca Supelco, se realizaron 5 métodos diferentes y se escogió el reportado en la Tabla 2, debido que fue el que mejor resolución de picos presentó y en el que no hubo solapamiento entre picos.

El cromatograma obtenido en la separación e identificación de Pesticidas Organoclorados mediante el método reportado en la Tabla 2 para un patrón de 2 µg/mL se muestra en la Figura 1.

Figura 1

Cromatograma obtenido del patrón de 2 µg/ mL



Nota: Datos de la investigación.

De forma adicional, en la Tabla 4 se registran los tiempos de retención.

Tabla 4

Tiempo de retención de los pesticidas

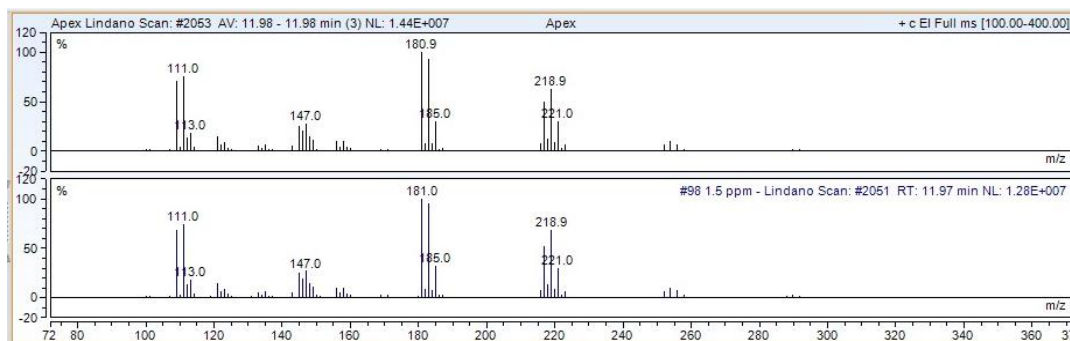
No. Pico	Pesticida	Tiempo de Retención (minutos)
1	Simazina	11,66
2	Lindano	12,01
3	Alacloro	13,43
4	Aldrin	14,13
5	trans-Nonaclor	15,72
6	Dieldrin	16,08
7	cis-Nonaclor	16,89

Nota: Datos de la investigación.

Para verificar la identidad de los pesticidas y asignar los nombres a los 7 picos cromatográficos correspondientes, se tomaron los espectros en masas full para cada pico y se comparó con los de las bases de datos NIST, observando que la probabilidad de que el pico fuera el pesticida reportado en el estándar fuera superior al 90%. En la Figura 2 se muestra la comparación entre el espectro del pico de la base de datos (arriba) frente al experimental (abajo) del Lindano. De la misma manera se procedió para la identificación del resto de los pesticidas analizados.

Figura 2

Comparación del espectro de masas del Lindano



Nota: Datos de la investigación.

Arriba: Espectro de masas del Lindano en la base de datos.

Abajo: Espectro de masas experimental.

Límite de detección y cuantificación

Se calculó la relación señal ruido (S/N) para cada uno de los picos cromatográficos, se realizaron diluciones sucesivas a partir de una solución madre de 5 µg/mL. Los patrones van desde 1,5 µg/mL hasta 0,1 µg/mL. Con la relación señal/ruido obtenida para cada concentración de pesticida frente a la relación señal/ruido del blanco se calculó los límites de detección y cuantificación, para lo cual se multiplico por 3 y por 10 respectivamente la señal producida por el ruido de fondo (blanco). En la Tabla 5 se muestran los resultados para todos los pesticidas.

Tabla 5

Límites de detección y de cuantificación de los pesticidas

Pesticida	Límite de detección (µg/mL)	Límite de cuantificación (µg/mL)
Simazina	0,1	0,3
Lindano	0,015*	0,1
Alacloro	0,025*	0,1
Aldrin	0,015*	0,1
trans-Nonaclor	0,1	0,3
Dieldrin	0,1	0,3
cis-Nonaclor	0,1	0,5

Nota: Datos de la investigación.

*valores teóricos calculados.

Inicialmente los límites de cuantificación se encontraban por debajo de la concentración menor en la curva de calibrado, la cual iniciaba a partir de 0, 5 µg/mL hasta 3 µg/mL para todos los pesticidas, pero debido a que a partir del punto 2 µg/mL la curva perdía linealidad, se tomó valores desde el límite de cuantificación para cada pesticida.

En la Tabla 5 anteriormente presentada, se resalta que para los pesticidas Lindano, Alacloro y Aldrin se reportan los límites de detección teóricos calculados, esto debido que al bajar en la concentración hay mayores interferencias y las señales obtenidas se encontraban muy cercanas al ruido, obteniéndose relaciones señal/ruido menores a 2.

Curva de Calibración y Tratamiento estadístico

Se realizó una curva día durante 4 días consecutivos, teniendo en cuenta el límite de cuantificación de cada pesticida empezando la curva en dicha concentración. Para cada una de las curvas de calibración obtenidas para los pesticidas, se calculó los datos estadísticos que sirven como criterios de confianza del método cromatográfico que se está llevando a cabo, los parámetros calculados son los siguientes: linealidad, repetibilidad, sensibilidad, reproducibilidad y exactitud.

Linealidad

Para verificar la linealidad de las curvas de calibración obtenidas para cada pesticida, se requiere comprobar si el coeficiente de correlación r es realmente significativo mediante el estadístico t de student, para lo cual se toma como hipótesis nula (H_0): que no existe una correlación entre las variables; y como hipótesis alterna (H_1): que existe correlación entre las variables, por lo cual si el t calculado (experimental) es mayor al t tabulado, se rechaza la H_0 y se concluye que la correlación es significativa.

Con los resultados de la Tabla 6 se puede observar que el t experimental es mayor que el t tabulado por lo cual se comprobó que existe una relación lineal significativa en las variables para una probabilidad de 0,05.

Tabla 6

Resultados del t de student

Pesticida	r^2	R	t_{exp}	t_{tab}
Simazina	$0,9891 \pm 0,006$	0,9945	16,4990	3,18
Lindano	$0,9941 \pm 0,003$	0,9970	22,4823	3,18
Alacloro	$0,9857 \pm 0,003$	0,9928	14,3800	3,18
Aldrin	$0,9912 \pm 0,003$	0,9956	18,3818	3,18
trans-Nonaclor	$0,9935 \pm 0,003$	0,9967	21,4121	3,18
Dieldrin	$0,9934 \pm 0,003$	0,9967	21,2493	3,18
cis-Nonaclor	$0,9924 \pm 0,004$	0,9962	19,7928	3,18

Nota: Datos de la investigación.

El valor recomendable para el coeficiente de determinación es ≥ 0.999 , sin embargo, en el caso de impurezas se admite ≥ 0.990 (Usma y Villegas, 2008). Para las curvas de calibración realizadas se obtuvo un coeficiente de determinación (r^2) en promedio ≥ 0.990 , es decir que hubo un comportamiento lineal para cada una de las curvas.

Comparando la linealidad que se obtuvo para el método con resultados obtenidos en diversas investigaciones para pesticidas (Cardona y Giraldo, 2008), se puede observar que obtuvieron coeficientes de determinación mayores a 0.99, resultados muy similares a los reportados.

Repetibilidad

Los resultados para la repetibilidad del método cromatográfico se realizaron mediante las áreas obtenidas de los picos para cada pesticida, la repetibilidad es una medida de la precisión sobre las mismas condiciones de operación, frecuentemente descrito como precisión medida en diferentes días.

Tabla 7

Resultados de la repetibilidad para áreas de todos los pesticidas analizados

Pesticida	Concentración ($\mu\text{g/mL}$)	%CV
Aldrin	0,1	4,08
	0,3	3,67
	0,5	2,60
	1	2,59
	1,5	2,99
Lindano	0,1	6,39
	0,3	1,76
	0,5	2,07
	1	1,82
	1,5	3,29
Alacloro	0,1	8,39
	0,3	6,93
	0,5	4,16
	1	2,35
	1,5	1,83
Simazina	0,3	7,13
	0,5	2,63
	1	5,25
	1,5	1,62
	2	2,90
trans Nonaclor	0,3	5,22
	0,5	2,03
	1	2,15

	1,5	2,99
	2	2,62
Dieldrin	0,3	3,09
	0,5	3,77
	1	2,62
	1,5	3,18
	2	2,15
cis-Nonaclor	0,5	4,06
	1	4,65
	1,5	2,72
	2	3,72
	2,5	3,93

Nota: Datos de la investigación.

El promedio obtenido para el %CV para estimar la repetibilidad para la evaluación del método en cuanto a las áreas obtenidas es inferior al 10% para cada uno de los pesticidas, este valor es aceptable por cumplir lo establecido por la EPA (%CV < 16%) para análisis trazas. Con lo cual se evidencia que el método es repetible.

Sensibilidad

La sensibilidad del método para cada pesticida se tomó como la pendiente de la curva de calibración con su respectiva desviación estándar. En la Tabla 8 se muestra los resultados obtenidos para cada pesticida.

Tabla 8

Resultados para la sensibilidad de método para cada pesticida

Pesticida	Sensibilidad (área/ppm)
Simazina	1,24E+06 ± 875553
Lindano	1,50E+06 ± 577350
Alacloro	2,50E+06 ± 1290994
Aldrin	1,75E+06 ± 957427
trans-Nonaclor	1,41E+06 ± 699550
Dieldrin	2,25E+06 ± 957427
cis-Nonaclor	1,71E+06 ± 589922

Nota: Datos de la investigación.

Exactitud

Para determinar este parámetro se tomó los valores de las concentraciones obtenidas mediante las curvas de calibrado para cada señal dada por el equipo (área) durante los días en que se llevó a cabo el análisis. En la Tabla 9 se muestran los resultados obtenidos de este parámetro, para el Aldrin, vale resaltar que de la misma manera se procedió para todos los pesticidas.

Tabla 9

Resultados obtenidos para la Exactitud –Aldrin

Pesticida	Concentración real (µg/mL)	Conc_{exp} (µg/mL) Día 1	Conc_{exp} (µg/mL) Día 2	Conc_{exp} (µg/mL) Día 3	Conc_{exp} (µg/mL) Día 4	% Error
Aldrin	0,1	0,1704	0,1867	0,1840	0,1896	82
	0,3	0,3224	0,3372	0,2986	0,3135	5,97
	0,5	0,5165	0,5564	0,4654	0,4512	0,53
	1	1,0187	1,2549	1,1100	1,1506	13,36
	1,5	1,7149	1,8579	1,6510	1,6763	15,00

***Nota:* Datos de la investigación.**

En la Tabla 9 se observan los resultados obtenidos para el Aldrin, en relación con la exactitud del método cromatográfico, el error relativo muestra que a partir de la concentración 0,3 a 1,5 µg/mL el error es menor al 20% indicando que a estas concentraciones el Aldrin conserva una exactitud aceptable (Quenguan y Erazo, 2015), mientras que en la concentración de 0,1 µg/mL este supera elevadamente al 20% por lo cual en dicha concentración no hay exactitud, esto se puede contrastar con la prueba de Tukey, en la cual se evidencio que en las concentraciones de menor nivel de la curva no se encontraba diferencia significativa por ende no se logran diferenciar la una de las otras porque tienden a obtener señales parecidas. Así como también que al estar sobre el límite de cuantificación hay mayores interferencias las cuales pueden generar mayor error en los datos obtenidos. Con los resultados obtenidos se pudo observar que en el caso de aldrin, Lindano, alacloro y dieldrin la concentración más baja es la que reporta un % de error relativo superior al 20%, situado justo sobre el punto del límite de

cuantificación, mientras que para el resto de pesticidas los % de error relativos se encuentran dentro del rango $< 20\%$ con una exactitud aceptable.

El tratamiento estadístico se realizó siguiendo las directrices del protocolo para la estandarización de métodos analíticos del IDEAM (2006) y en diferentes trabajos de investigación reportados por la Universidad Tecnológica de Pereira.

Métodos de extracción evaluados

En el presente apartado, vale aclarar que se optimizaron métodos de extracción específicos para las matrices de suelo y agua, los cuales se seleccionaron por su menor tiempo de procesamiento, bajo consumo de solvente y mejores porcentajes de recobro, lo que permitió implementar el quinto principio de la química verde, enfocado en la reducción del uso de sustancias contaminantes. Para la extracción de compuestos en la matriz de suelo, se utilizó un proceso asistido por ultrasonido, seguido de centrifugación. En el caso de la matriz de agua, se empleó el método de extracción en fase sólida. No se aplicó análisis estadístico durante las extracciones, ya que el objetivo fue optimizar los métodos mediante la determinación de porcentajes de recobro tras la adición de estándares, lo que permitió calcular los coeficientes de variación. El análisis estadístico se realizó posteriormente para la estandarización del método.

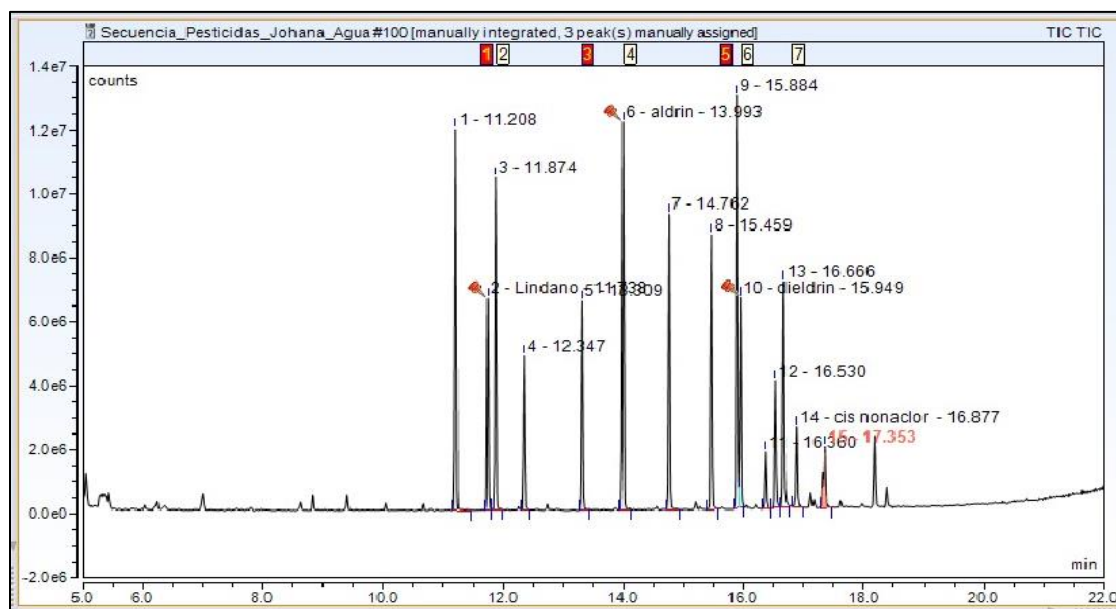
Extracción sólido-líquido asistida por ultrasonido y centrifugación

Los porcentajes de recobro obtenidos mediante esta técnica de extracción se llevaron a cabo con muestras de suelo a tres niveles de concentración, por triplicado, de tal manera que abarque el rango de la curva, se utilizaron niveles bajo, medio y alto, en cada extracción.

Debido a que por problemas de refrigeración el pesticida utilizado para la estandarización del método cromatográfico se evaporó, para las extracciones se utilizó un estándar marca Supelco mezcla TCL – 2000 $\mu\text{g/mL}$ de cada componente en tolueno: hexano (50:50), que contiene 18 pesticidas organoclorados, de los cuales 3 son de interés para este trabajo, dichos pesticidas son: Lindano, aldrin y Dieldrin los cuales eluyen en el mismo orden y a tiempos de retención similares al anterior estándar.

Figura 3

Cromatograma obtenido para el estándar usado en la extracción



Nota: Datos de la investigación.

Los resultados obtenidos para cada extracción se analizaron mediante curva de calibrado representada por la cantidad en microgramos (μg) de pesticida añadidos entre cantidad en microgramos (μg) de pesticida obtenidos, siendo la pendiente de la curva la que estima el valor para el porcentaje de recobro. Los porcentajes de recobro obtenidos se muestran en la Tabla 10:

Tabla 10

Porcentajes de recobro para el método de extracción sólido-líquido asistido por ultrasonido y centrifugación

Pesticida	% Recobro	% CV
Lindano	55	10,74
Aldrin	53	8,04
Dieldrin	41	17,92

Nota: Datos de la investigación.

Como se muestra en la Tabla 10 los porcentajes de recuperación para los pesticidas se encuentran en un rango de 41 a 55%. Estos porcentajes se calcularon mediante relación de áreas de cada muestra y el patrón.

La precisión del método de extracción es expresada en desviación estándar (SD) o porcentaje de coeficiente de variación (CV). El promedio de los valores para el CV es 12,23 menor al 20% (EPA, Method 8081A: Organochlorine pesticides by gas chromatography, 1996) para los tres pesticidas lo cual muestra que el método es reproducible en la extracción.

Cabe resaltar que se espera que el resto de pesticidas sigan el mismo comportamiento y recobros similares en la extracción.

Las características fisicoquímicas del suelo empleado para la optimización del método de extracción (suelo 1) y los utilizados como muestras reales (suelo 2 y 3) se muestran en la Tabla 11.

Tabla 11

Características fisicoquímicas del suelo

Propiedad	Suelo 1	Suelo 2	Suelo 3
Textura	Franco	Franco Arcillo Arenoso	Franco Arenoso
pH	5,8	5,5	5,6
%Carbono	2,53	1,72	0,86
% MO	4,37	2,97	1,49
Tipo cultivo	Yuca y caña de azúcar en periodo inicial	Pastura	No intervenido presenta cobertura vegetal

Nota: Datos de la investigación.

El suelo 1 se utilizó como blanco para el proceso de extracción, para esto se fortificó con un volumen de pesticida de concentración conocida, de todos los suelos se usó este debido a que era el que mayor %M.O presentaba facilitando así una mayor interacción suelo-pesticida. Una de las razones por las cuales no se obtuvo porcentajes de recobro más altos, se puede deber a las

características fisicoquímicas del suelo ya que ya al tener un contenido de materia orgánica bajo, se pudieron dar mayores interacciones específicas con las arcillas, así como también alguna posible degradación al momento de aplicar el ultrasonido.

Por otra parte, de acuerdo el Lindano muestra una baja afinidad de ligarse al suelo, y tiende a ser móvil en suelos con bajo contenido de materia orgánica, característica que pudo facilitar su extracción. El dieldrin por el contrario una vez liberado en el suelo se liga fuertemente a este y también tiende a volatizarse una vez entra en contacto el suelo, razón por la cual el porcentaje de recobro fue menor que en los demás (FAO, 2019).

Extracción en Fase Sólida (SPE)

Para la extracción de muestras acuosas se usó la técnica de extracción en fase sólida, se llevó a cabo con muestras de agua potable (grifo) para los cinco niveles de concentración de la curva. Los porcentajes de recobro se estimaron como la pendiente de la curva de la relación entre la cantidad añadida y la obtenida. Para esto se fortificó una muestra de agua con diferentes volúmenes de concentración conocida. Los porcentajes de recobro obtenidos para los pesticidas se muestran en la Tabla 12.

Tabla 12

Porcentajes de recobro para el método de extracción en fase sólida

Pesticida	%Recobro	%CV
Lindano	44	14,46
Aldrin	46	9,74
Dieldrin	62	8,09

Nota: Datos de la investigación.

En la Tabla 12 se muestran los resultados obtenidos en la extracción en fase sólida el pesticida con mayor porcentaje de recobro es el Dieldrin, este pesticida no es soluble en agua al igual que el aldrin, y esta puede ser una de las razones de que tuvo un porcentaje mayor de recuperación, a la vez cabe resaltar que el producto principal de la degradación del aldrin es el dieldrin, lo cual pudo llevar a que este último obtuviera un porcentaje mayor. Sin embargo, el

aldrin en el agua se volatiliza de la superficie y esta puede ser una de las razones del porque su porcentaje de recobro es bajo. Por su parte el Lindano es muy soluble en agua, debido que para esta extracción se usó diclorometano, así como los niveles de la curva están preparados en este mismo solvente, el porcentaje de recobro para este pesticida pudo verse afectado debido a que estos dos solventes no son miscibles entre sí, dificultando así la extracción para este pesticida (FAO, 2019).

La precisión del método de extracción es expresada en desviación estándar (SD) o porcentaje de coeficiente de variación (CV). El promedio de los valores para el CV es 10,76 menor al 20% para los tres pesticidas lo cual muestra que el método es reproducible en la extracción (EPA, 1995).

Análisis de muestras reales

Para la determinación de pesticidas organoclorados en muestras de suelo se adquirió dos muestras de suelo del Municipio de Suarez Cauca, y se analizaron de la misma manera que la muestra empleada para la determinación de los porcentajes de recobro para cada pesticida. Una vez realizado el procedimiento de extracción se inyectó al cromatógrafo de gases acoplado a espectrometría de masas por impacto electrónico.

Para las 2 muestras de suelo analizadas mediante el método de extracción sólido-líquido asistido por ultrasonido y centrifugación no se detectó la presencia de ninguno de los 3 pesticidas que se tuvieron en cuenta en la extracción. Sin embargo, en el suelo 3, se detecta la presencia de o-p' DDE con un 41% de probabilidad, a un tiempo de retención de 15,89 minutos y con un área promedio de 3151,7054 mAU*min.

Para las muestras de agua se fortifico agua potable (agua de grifo) en dos niveles de concentración de la curva, los porcentajes de recobro se muestran en la Tabla 13.

Tabla 13

Resultados para muestras de agua fortificadas a dos niveles de pesticidas

Pesticida	Concentración (µg/mL)	%R	%CV
Lindano	0,1	133,06	0,63
	1,5	46,69	6,24
Aldrin	0,1	61,18	1,03
	1,5	45,78	2,74
Dieldrin	0,1	74,31	0,76
	1,5	50,93	13,07

***Nota:* Datos de la investigación.**

Como se puede observar en la Tabla 13 los coeficientes de variación obtenidos en los porcentajes de recobro son < 20% y a su vez se encuentran en el rango del 70 al 130% establecido por la EPA como un rango óptimo de extracción, con lo cual se puede concluir que el método propuesto es reproducible y permite la determinación de pesticidas organoclorados en muestras acuosas.

5. Conclusiones

- ✓ Se estandarizo el método por cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas para la identificación, separación y cuantificación de 7 pesticidas organoclorados en suelo y agua.
- ✓ Se evaluaron dos métodos de extracción: sólido-líquido asistida por ultrasonido y centrifugación y extracción en fase sólida para los cuales se obtuvieron porcentajes de recobro de entre 41 al 55% y de 44% al 62% respectivamente para 3 de los 7 pesticidas evaluados.
- ✓ La aplicación de la metodología en muestras reales de suelo no detectó la presencia de pesticidas en la muestra de suelo 2, mientras que en el suelo 3 se detecta la presencia de o-p' DDE., para las muestras de agua se fortificó agua potable en dos niveles, obteniéndose porcentajes de recobro en el rango de 47 a 133% con porcentajes de variación menores al 20% con lo cual se puede concluir que el

método propuesto es reproducible y permite la determinación de POC's y permite la determinación de estos en muestras acuosas.

- ✓ Se obtuvo buenos resultados en los coeficientes de correlación r^2 en la calibración de la técnica cromatográfica con un promedio de 0,9913, siendo mayores de 0,99 mostrando así una buena linealidad en contraste con estudios realizados para análisis de pesticidas en suelo y aguas ya reportados.
- ✓ Se logró una muy buena precisión del método cromatográfico. El promedio de CV para las curvas de calibración es de 3,52% siendo inferior al 10% este valor es aceptable por cumplir lo establecido por la EPA ($\%CV < 16\%$) para el análisis de trazas en muestras complejas reflejando así su precisión.

Por último, se recomienda el uso de otros solventes o mezcla de estos para las metodologías de extracción evaluadas que permita su análisis. Como también que en la extracción sólido-líquido asistida por ultrasonido y centrifugación el solvente se adicione por etapas para mejorar así los porcentajes de recobro en el solvente empleado.

Referencias bibliográficas

- EPA. (1996). *Method 8081A: Organochlorine pesticides by gas chromatography*. <http://www.caslab.com/EPA-Methods/PDF/8081a.pdf>
- FAO. (1990). *Depósito de documentos de la FAO*. <http://www.fao.org/docrep/W1604S/w1604s04.htm>
- FAO. (acceso 2019). *Depósito de documentos de la FAO*. <http://www.fao.org/3/x2570s/X2570S10.htm>
- Guerrero, J., y Velandia, N. (2014). *Comparación de dos metodologías para la determinación de residuos de plaguicidas en agua potable*. *Revista Colombiana de Química*, 43(1), 17-24.
- Gulbakan, B., Uzun, C., Celikbicak, O., Guven, O., & Salih, B. (2008). *Solid phase extraction of organochlorine pesticides with modified poly (styrene-divinylbenzene) microbeads using homemade solid phase extraction syringes*. *Reactive y Functional Polymers*, 68, 580-593.
- Gutiérrez, M., & Droguet, M. (2002). *La cromatografía de gases y la espectrometría de masas: identificación de compuestos causantes de mal olor*. *Boletín Intexter (U.P.C)*(122), 35-41.

- Herrera, M. (2011). *Implementación de una metodología para la determinación de glifosato en muestras de agua*. Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga.
- IDEAM. (2006). *Estandarización de métodos analíticos. Protocolo de Estandarización*, Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales.
- Linn, D., Carski, T., Brusseau, M., & Chang, F. (1993). *Sorption and Degradation of Pesticides and Organic Chemicals in Soil*. Soil Science Society of America. (D. Linn, T. Carski, M. Brusseau, & F. Chang, Edits.) Madison, Wisconsin, USA.
- Marin, J. (2011). *Dinámica de fungicidas en suelos de viñedo enmendados con sustratos postcultivo de hongos*. Universidad de Salamanca, Salamanca.
- Martínez, J., & Páez, M. (2017). *Diseño de experimentos aplicado en la optimización del método de extracción quechers para la determinación de plaguicidas organoclorados y organofosforados en suelos*. Revista Internacional de Contaminación Ambiental, 33(4), 559-573.
- Mendieta, C., Ortega, N., Solano, N., & Figueroa, J. (2017). *Metodología para la determinación de pesticidas organoclorados mediante cromatografía de gases acoplado espectrometría de masas y detector de captura de electrones*. Revista Politécnica, 40(1), 1-8.
- Mosquera, D. (2012). *Estandarización de un método para la cuantificación de pesticidas organoclorados y organofosforados en suelos por cromatografía de gases con detectores FID y ECD*. Trabajo de grado, Universidad Tecnológica de Pereira, Pereira.
- Muñoz, B. (2012). *Impacto de fertilizantes y pesticidas en la calidad del suelo y el agua*. Bilbao: Euskal Herriko Unibertsitateko Argitalpen Zerbitsua.
- Murillo, W., & Salazar, D. (2011). *Tendencias verdes en la agricultura para el manejo y control de plagas*. Revista Tumbaga, 6, 63-92.
- Navarro, S., Vela, N., & Navarro, G. (2007). *Review. An overview on the environmental behaviour of pesticide residues in soils*. Spanish Journal of Agricultural Research, 5(3), 357-375.
- OMS. (2009). *The WHO Recommended Classification of Pesticides by Hazard and Guidelines to Clasification*. https://www.who.int/ipcs/publications/pesticides_hazard_2009.pdf?ua=1
- Pérez, E. (2011). *Determinación de plaguicidas organoclorados en agua de pozos adyacentes a zonas agrícolas mediante CG-MS*. Universidad de Carabobo, Bárbula.

- Ramírez, A. (2011). Estandarización de la técnica GC-MS para análisis de cocaína y caracterización de sus principales adulterantes en el eje cafetero. Trabajo de grado, Universidad Tecnológica de Pereira, Pereira.*
- Ravelo, L. (2009). Metodologías analíticas alternativas para la determinación de plaguicidas en aguas y productos agroalimentarios. España.*
- Salemi, A., Khaleghifar, N., & Mirikaram, N. (2019). Optimization and comparison of membrane-protected micro-solid-phase extraction coupled with dispersive liquid-liquid microextraction for organochlorine pesticides using three different sorbents. Microchemical Journal, 144, 215-220.*
- Usma, J., y Villegas, C. (2008). Evaluación del grado de contaminación por pesticidas organoclorados del río Otun, departamento de Risaralda, mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas. Universidad Tecnológica de Pereira, Pereira.*