

**UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRES  
FACULTAD DE CIENCIAS PURAS Y NATURALES  
CARRERA DE CIENCIAS QUIMICAS**



**TRABAJO DIRIGIDO**

**PARA OPTAR AL GRADO DE LICENCIATURA EN CIENCIAS QUIMICAS**

**OPTIMIZACIÓN EN EL RENDIMIENTO PARA LA RECUPERACIÓN DE RESIDUOS  
PESTICIDAS EN EXTRACCIÓN QUECHERS, PARA MUESTRAS DE QUINUA**

PRESENTA:

**FREDDY MAMANI GUTIERREZ**

TUTOR:

**Dr. ROMULO GEMIO SIÑANI**

TRIBUNAL:

**Ph. D. RIGOBERTO ROGELIO CHOQUE ASPIAZU**

**LA PAZ – BOLIVIA**

**2016**

## **DEDICATORIA**

Primeramente a Dios por haberme permitido llegar hasta este punto y haberme dado salud, ser el manantial de vida y darme lo necesario para seguir adelante día a día para lograr mis objetivos, además de su infinita bondad y amor.

A mi madre por haberme apoyado en todo momento, por sus consejos, sus valores, por la motivación constante que me ha permitido ser una persona de bien, pero más que nada, por su amor. A mi padre por los ejemplos de perseverancia y constancia que lo caracterizan y que me ha infundado siempre, por el valor mostrado para salir adelante y por su amor. A mis hermanos y hermanas con los cuales aprendí aciertos y pase momentos difíciles, superándonos cada día, y a todos aquellos que ayudaron directa o indirectamente a realizar este documento.

A mi tutor por su gran apoyo y motivación para la culminación de mis estudios profesionales, por su apoyo ofrecido en este trabajo, por haberme transmitidos los conocimientos obtenidos en el aprendizaje.

## **AGRADECIMIENTOS**

A la prestigiosa casa de estudios Universidad Mayor de San Andrés, “UMSA” por darme la oportunidad de estudiar una carrera profesional como Ciencias Químicas y abrirme no solo enseñanzas nuevas en mi vida, sino varios recuerdos y momentos que nunca olvidare, también malos momentos, pasando por muchos momentos memorables

A quienes me guiaron y apoyaron a culminar mi trabajo Dr. Rómulo Gemio por haberme brindado su apoyo, amistad y confianza en la investigación y elaboración de este trabajo dirigido. Gracias por todo

A todo el plantel docente de la universidad, por brindar su apoyo incondicional en nuestra formación profesional.

A mis compañeros de la carrera de ciencias químicas, fueron una parte fundamental a continuar superándome profesionalmente.

A mis compañeros del Laboratorio LABSER SRL. También a los gerentes y ejecutivos de la prestigiosa empresa, por brindarme la oportunidad de desarrollar mi desempeño profesional.

## INDICE

Pag.

### CAPITULO 1

1. INTRODUCCIÓN.....	8
----------------------	---

### CAPÍTULO 2

2. OBJETIVOS	
2.1. OBJETIVO GENERAL.....	10
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	10

### CAPÍTULO 3

3. MARCO TEÓRICO	
3.1. GENERALIDADES SOBRE LOS PESTICIDAS.....	11
3.2. CLASIFICACIÓN DE LOS PESTICIDAS SEGÚN SU GRUPO QUÍMICO.....	12
3.2.1. ORGANOCLORADOS.....	12
3.2.2. ORGANOFOSFORADOS.....	12
3.2.3. CARBAMATOS.....	13
3.2.4. DICARBOXIIMIDAS.....	13
3.3. CLASIFICACIÓN DE LOS PESTICIDAS S ORDEN CRONOLÓGICO.....	13
3.3.1. PESTICIDAS DE 1ª GENERACIÓN.....	13
3.3.2. PESTICIDAS DE 2ª GENERACIÓN.....	13
3.3.3. PESTICIDAS DE 3ª GENERACIÓN.....	14
3.3.4. PESTICIDAS DE 4ª GENERACIÓN.....	14
3.3.5. PESTICIDAS DE 5ª GENERACIÓN.....	14
3.4. CIPERMETRINA.....	14
3.5. CLORPIRIFOS.....	18
3.6. SULFOTEP.....	21
3.7. MÉTODOS EMPLEADOS EN EL ANÁLISIS.....	24
3.7.1. MÉTODOS DE EXTRACCIÓN DE RESIDUOS DE PESTICIDAS.....	24
3.7.2. EXTRACCIÓN CON DISOLVENTES ORGÁNICOS.....	25
3.7.3. MÉTODOS DE SEPARACIÓN, IDENTIFICACIÓN Y CUANTIFICACIÓN....	26
3.7.3.1. TÉCNICAS DE SEPARACIÓN: CROMATOGRAFÍA.....	27
3.7.4. QUINUA.....	30
3.7.4.2. COMPOSICION NUTRICIONAL DE LA QUINUA.....	31

### CAPÍTULO 4

4.1. JUSTIFICACIÓN.....	32
-------------------------	----

## CAPÍTULO 5

5.1. DATOS DE LA EMPRESA.....	33
-------------------------------	----

## CAPÍTULO 6

6.1. METODOLOGÍA.....	35
6.1. ETAPA DE ANALISIS PRELIMINAR.....	35
6.2. ETAPA DE EXPERIMENTACIÓN.....	35
6.3. ETAPA DE ANÁLISIS DE DATOS.....	36

## CAPÍTULO 7

7. MATERIAL Y REACTIVOS.....	37
7.1. MUESTRAS.....	37
7.1.2 MUESTRA DE QUINUA.....	37
7.2. PATRONES DE PESTICIDAS.....	37
7.3. SOLVENTE.....	38
7.4. REACTIVOS PARA LA EXTRACCIÓN QUECHERSPARA EL MÉTODO.....	38
7.5 REACTIVOS PARA EL LAVADOFORMULACION SEGÚN METODO.....	39
7.6. OTROS REACTIVOS.....	39
7.7. MATERIALES, APARATOS Y EQUIPOS.....	40

## CAPITULO 8

8. METODOLOGÍA.....	40
8.1. PREPARACIÓN DE LAS SOLUCIONES PATRÓN.....	40
8.2. PREPARACIÓN DEL SULFATO MAGNÉSICO ANHIDRO.....	40
8.3. PREPARACIÓN DE LA MUESTRA.....	41
8.4. EXTRACCIÓN DE PESTICIDAS DE LA QUINUA.....	41
8.4.1. EXTRACCIÓN A.....	41
8.4.2. EXTRACCIÓN B.....	41
8.4.3. EXTRACCIÓN C.....	42
8.4.4. EXTRACCIÓN D.....	42
8.5. DETERMINACIÓN CROMATOGRÁFICA.....	43
8.5.1. PARA LAS CURVAS DE CALIBRACION.....	43
8.5.2. PARA LAS MUESTRAS.....	43
8.5.3. ELABORACIÓN DE LA CURVA DE CALIBRACIÓN.....	43

## CAPITULO 9

9. PARTE EXPERIMENTAL.....	44
9.1. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL.....	44
9.1.1. PREPARACIÓN DE LAS SOLUCIONES PATRÓN.....	44
9.1.2. PREPARACIÓN DE LA MUESTRA.....	44
9.1.3. EXTRACCIÓN A, EXTRACCIÓN B, EXTRACCIÓN C y EXTRACCIÓN D....	45
9.1.4. DETERMINACIÓN CROMATOGRÁFICA.....	47
9.1.4.1 EL SOFTWARE PARA LA INYECCIÓN.....	48
9.1.4.2. COMATOGRAMA Y SELECCIÓN DE LOS TIEMPOS DE RETENCIÓN...	48

## CAPITULO 10

10. RESULTADOS Y DISCUSIONES.....	51
10.1 DATOS DE LAS CONDICIONES DE OPERACIÓN DEL EQUIPO.....	51
10.2 TIEMPOS DE RETENCIÓN PARA LOS PESTICIDAS.....	51
10.3 PARA LAS CURVAS DE CALIBRACIÓN.....	51
10.3.1. DATOS PARA LA CURVA DE CALIBRACIÓN CLORPIRIFOS.....	51
10.3.2. CURVA DE CALIBRACIÓN SULFOTEP.....	52
10.3.3. CURVA DE CALIBRACIÓN CIPERMETRINA.....	53
10.4. CROMATOGRAMAS DE LAS MUESTRAS.....	53
10.4.1 ÁREAS INTEGRADAS POR CADA MUESTRA.....	54
10.5. CALCULO DEL RENDIMIENTO DE LA EXTRACCIÓN.....	54

## CAPITULO 11

11. CONCLUSIONES.....	55
-----------------------	----

## CAPITULO 12

12. COMENTARIOS Y OBSERVACIONES.....	57
--------------------------------------	----

## CAPITULO 13

13. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	58
-------------------------------------	----

ANEXOS.....	60
ANEXO A	
ANEXO C	
ANEXO C-1	
ANEXO D	
ANEXO D-3	
ANEXO D-4	
ANEXO D-5	
ANEXO D	
ANEXO D-1	

## OPTIMIZACIÓN EN EL RENDIMIENTO PARA LA RECUPERACIÓN DE RESIDUOS PESTICIDAS EN EXTRACCIÓN QUECHERS, PARA MUESTRAS DE QUINUA

### CAPITULO 1

#### 1. INTRODUCCIÓN.-

La agricultura se beneficia de la aplicación extensiva de pesticidas debido a que disminuye la pérdida de cultivos y aumenta la producción. La agricultura en la mayor parte del país involucra el uso de diversos pesticidas para el control de plagas, enfermedades y todo tipo de amenaza en los cultivos.

El uso de pesticidas en Bolivia ha generado una problemática reflejada en la economía de los productores, la exposición de la salud de los consumidores, las inadecuadas condiciones laborales de los agricultores, el incumplimiento de la normativa nacional e internacional y la contaminación del ambiente. Todo esto tiene repercusiones en el área productiva, económica, social, política, de salud pública y en definitiva de seguridad y soberanía alimentaria.

Los pesticidas empleados indiscriminadamente, dependiendo de la toxicidad, el tiempo y el tipo de exposición, representan un riesgo potencial a los consumidores y al ambiente, incluyendo los suelos y el agua. Por lo que la Comunidad Europea (CE), la Organización de Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO), la Organización Mundial de la Salud (OMS) y algunos gobiernos han convertido al monitoreo y control de los pesticidas en actividades prioritarias para determinar la calidad y seguridad de los alimentos y han establecido límites máximos residuales (LMRs).

Para sustentar los resultados de los análisis de residuos de pesticidas realizados en alimentos, es primordial emplear técnicas y metodologías sistemáticas que permitan la extracción, separación, identificación y cuantificación. Además, es importante validar los métodos considerando varios parámetros de calidad, entre ellos, precisión (repetibilidad y reproducibilidad), límites de detección (LDD) y límites de cuantificación (LDC), también puede considerarse el uso de adición estándar o emplear un estándar interno (*Fernández-Moreno, J. L. et al., 2008*).

Para realizar la extracción de residuos de pesticidas de alimentos, se han implementado técnicas, tales como: extracción sólido-líquido o líquido-líquido, QuEChERS (rápido, fácil, barato, efectivo, robusto y seguro por sus siglas en inglés), extracción con fluidos supercríticos, extracción con líquidos presurizados, extracción asistida con microondas, extracción en fase sólida y micro-extracción

en fase sólida. Cualquier técnica de extracción a emplear en el análisis de residuos de pesticidas en alimentos debe maximizar la recuperación de analitos y minimizar las interferencias (Lambropoulou, D. A.; Albanis, T. A., 2007).

Además, las metodologías analíticas empleadas para realizar la separación, identificación y cuantificación, miden residuos a niveles de concentración de ppm, y proveen evidencia confiable para confirmar la identidad y la magnitud de los residuos detectados. Los métodos analíticos descritos en la literatura incluyen generalmente cromatografía de gases (GC) (Figura 1) o cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), acopladas a un detector selectivo o universal. Los detectores empleados son: de conductividad térmica, de ionización de llama, de captura de electrones, de fotometría de llama y de nitrógeno-fósforo, detector Hall, detector infrarrojo de transformada de Fourier y espectrómetro de masa (Lambropoulou, D. A.; Albanis, T. A., 2007; Rubinson, K. A.; Rubinson, J. F., 2001).

Es esencial emplear las técnicas y metodologías que permitan obtener resultados reproducibles, confiables y puedan emplearse en análisis de rutina, esto implica utilizar técnicas de extracción adecuadas y establecer las condiciones apropiadas de operación de los equipos disponibles.

La técnica de extracción de residuos de pesticidas utilizada en este trabajo fue la extracción sólido-líquido empleando acetonitrilo como disolvente. Esta técnica fue usada debido a su simplicidad, intervalo de aplicación amplio, rapidez y recuperaciones altas de compuestos de polaridad diferente. La extracción sólido-líquido se ha empleado en alimentos líquidos, vegetales, cereales y frutas (Araoud, M. et al., 2007; Lambropoulou, D. A. et al., 2007; Garrido-Frenich, A. et al., 2004 y 2005).



Figura 1. Cromatógrafo de gases en red Agilent 5977B, fuente propia.2016

## CAPÍTULO 2

### 2. OBJETIVOS:

#### 2.2. OBJETIVO GENERAL.-

- Determinar en una matriz de quinua orgánica, el rendimiento relativo de la extracción sólido-líquido (QuEChERS) para residuos de pesticidas, empleando una técnica de adición patrón (fortificado con pesticidas, CIPERMETRINA, SULFOTEP Y CLORPIRIFOS), para cuatro formulaciones, mediante análisis por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masa (GC-MS).

#### 2.3. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.-

- Preparar curvas de calibración de los patrones cipermetrina, clorpirifos, sulfotep. Utilizando acetonitrilo como disolvente.
- Preparar una muestra de quinua fortificada a 0.3 µg/mL con cipermetrina, clorpirifos, sulfotep.
- Realizar extracciones sólido-líquido QuEChERS de los pesticidas, con cuatro distintas formulaciones de reactivos de extracción y lavado, en muestras de quinua orgánica, empleando acetonitrilo como disolvente.
- Establecer las condiciones de operación en el equipo de GC-MS. y obtener los cromatogramas de las extracciones.
- Determinar el tiempo de retención para las moléculas cipermetrina, clorpirifos y sulfotep.
- Realizar un análisis de los cromatogramas, para cada pesticida considerando los iones producto cuantificadores, obteniendo el área integrada de los analitos.
- Caracterizar según los tiempos de retención posibles moléculas interferentes.
- Obtener el rendimiento relativo de extracción de los plaguicidas (cipermetrina, clorpirifos, sulfotep) y determinar el más óptimo para muestras de quinua, definiendo la técnica de extracción a emplear en el análisis de residuos de pesticidas en alimentos.

## CAPÍTULO 3

### 3. MARCO TEÓRICO.-

El uso intensivo de pesticidas en cultivos propicia su persistencia en estos, y dependiendo de la concentración y toxicidad del pesticida puede llegar a perjudicar la salud de los consumidores. Por tal motivo, la Comunidad Europea (CE) y los gobiernos de Canadá, Estados Unidos de América, Japón, entre otros, establecen límites máximos residuales (LMRs) para regular cada pesticida en un alimento en particular.

Realizar el análisis de pesticidas en concentraciones de ppm óppb en alimentos es una tarea delicada, debido a la composición de la matriz y a la variedad de pesticidas que existen.

Recientemente, la tendencia en el análisis de pesticidas es el desarrollo de métodos multi-residuos que detectan un gran número de compuestos en un solo proceso. En general dicho análisis incluye extracción, separación, identificación y cuantificación.

Para efectuar la extracción efectiva de los residuos de pesticidas se han desarrollado varias técnicas. Una vez obtenido el extracto es necesario realizar el análisis instrumental, que consiste en la separación, identificación y cuantificación de los pesticidas generalmente mediante cromatografía de gases (GC) acoplada a un detector selectivo.

#### 3.1. GENERALIDADES SOBRE LOS PESTICIDAS

Debido a las necesidades alimenticias que requiere la población, los productores necesitan asegurar una determinada producción de alimentos y, si es posible, aumentar los rendimientos.

El uso de pesticidas es una herramienta que permite asegurar y alcanzar los objetivos de producción de vegetales. Los pesticidas son definidos por la comisión del *codex alimentarius* en conjunto con la FAO/OMS (1997) como: toda sustancia que se emplea para combatir las plagas agrícolas durante la producción, comercialización o elaboración de los alimentos o a toda sustancia que pueda administrarse por aplicación interna a los animales para destruir insectos o arácnidos, incluyéndose herbicidas, fungicidas, reguladores del crecimiento vegetal; no incluyéndose los abonos. Los pesticidas no son necesariamente venenos, pero pueden ser tóxicos (Alarcón-Rodríguez, R., 2004).

Aunque los pesticidas son necesarios, los residuos de éstos en los vegetales y en el ambiente; provocan efectos negativos en la salud que dependen de la proporción con la que se absorbe el pesticida. Por lo que es necesario que su monitoreo y control se convierta en una actividad prioritaria para determinar la calidad y seguridad de los alimentos.

### 3.2. CLASIFICACIÓN DE LOS PESTICIDAS SEGÚN SU GRUPO QUÍMICO:

A continuación se mencionan características generales de los pesticidas (según su grupo químico) de mayor interés en este trabajo.

**3.2.1. ORGANOCLORADOS.** Son de bajo costo y amplio espectro, su persistencia va desde moderada a muy persistentes, y sus residuos se encuentran en el ambiente y en los seres vivos. Son liposolubles, solubles en compuestos orgánicos de baja polaridad. Se acumulan en el tejido graso y se metabolizan lentamente. Son estables química y bioquímicamente. Se caracterizan por tener una estructura cíclica y átomos de cloro; dependiendo de dicha estructura, los pesticidas organoclorados se clasifican en tres grupos principales.

- a) Derivados halogenados de hidrocarburos alicíclicos, como el lindano.
- b) Derivados halogenados de hidrocarburos aromáticos, como el DDT.
- c) Derivados halogenados de hidrocarburos ciclodiénicos, como el aldrín y el endosulfán.

La acción tóxica principal de estos pesticidas se dirige al sistema nervioso, en donde estos compuestos inducen a un estado de sobre-excitación en el cerebro. (Albert, L. A., 1990).

**3.2.2. ORGANOFOSFORADOS.** Son generalmente ésteres de ácido fosfórico sustituidos. Se descomponen con mayor facilidad y son menos persistentes en el ambiente que los organoclorados, pero más peligrosos debido a que tienen un grado de toxicidad. Son biodegradables y no se acumulan en el organismo. Se han convertido en los insecticidas de mayor uso.

Los sustituyentes tienen gran influencia en las propiedades fisicoquímicas del compuesto y se relacionan además con la capacidad de penetración, distribución, activación y degradación del pesticida, con su sitio de ataque, potencia y selectividad.

Algunos ejemplos son: clorfenvinfos, demetión, diclorvos, diazinón, etilparatión, etión, fentión, fosfolán, malatión, metamidofos, metilazinfos, monocrotofos, tricorfón.

**3.2.3. CARBAMATOS.** Todos los carbamatos comparten la misma estructura base, son ésteres N-sustituidos del ácido carbámico. Las diferencias en la longitud de sus cadenas laterales determinan su toxicidad. Generalmente se consideran menos tóxicos que los compuestos organofosforados. Son usados principalmente como insecticidas de amplio espectro. Los tiocarbamatos y ditiocarbamatos son generalmente insecticidas débiles y también son usados frecuentemente como herbicidas o fungicidas.

La mayoría de los carbamatos son fácil y rápidamente absorbidos a través de la piel, pulmones, tracto gastrointestinal y mucosas

El carbofurán es considerado un insecticida con toxicidad alta (DL50 = 50 g/kg) (Dart, R. C. et al., 2003).

**3.2.4. DICARBOXIIMIDAS.** Dentro de este grupo se agrupan las sulfonimidias y las imidas N-cíclicas, aunque son compuestos diferentes estructuralmente se clasifican como fungicidas dicarboxiimidias. Estos heterociclos sufren degradación hidrolítica y/o fotolítica en suelos, plantas y animales.

El captan, folpet y captafol son sulfoniimidias y son usados principalmente para el control de mohos en frutas y vegetales. El captan se absorbe por el tracto gastrointestinal y se metaboliza rápidamente (Roberts, T.; Hutson, D., 1999).

### **3.3. CLASIFICACIÓN DE LOS PESTICIDAS SEGÚN ORDEN CRONOLÓGICO:**

Cronológicamente los pesticidas pueden ser clasificados en:

#### **3.3.1. PESTICIDAS DE 1ª GENERACIÓN**

- Inorgánicos (Arsénico, etc.)
- Orgánicos vegetales (Nicotina, Piretrinas naturales, Rotenona)
- Orgánicos minerales (Aceites minerales)

#### **3.3.2 PESTICIDAS DE 2ª GENERACIÓN**

Orgánicos sintéticos:

- Clorados (HCH, DDT, Heptacloro, etc.)
- Fosforados (Malatión, Paratión, Monocrotofós, etc.)
- Carbamatos (Carbaril, Carbofuram, etc.)
- Piretroides (Deltametrina, Permetrina, Cipermetrina, etc.)

### 3.3.3. PESTICIDAS DE 3ª GENERACIÓN

- Microbianos
- Feromonas

### 3.3.4. PESTICIDAS DE 4ª GENERACIÓN

- Hormonas juveniles (Diflubenzuron, Metroprene, etc.)

### 3.3.5. PESTICIDAS DE 5ª GENERACIÓN

Antihormonas:

- Vegetal (Precocenos)
- Microorganismos (Avermectin)

De los pesticidas citados anteriormente los más usados en regiones latinoamericanas son los organoclorados, fosforados, carbamatos y piretroides. (Roberts, T.; Hutson, D., 2009).

### 3.4. CIPERMETRINA.-

La cipermetrina es un insecticida, no sistémico, no volátil que actúa por contacto e ingestión. Ofrece un control efectivo de insectos, sin actividad sobre ácaros y baja toxicidad para los mamíferos. Tiene muy buena efectividad en lepidópteros, coleópteros y hemípteros. La cipermetrina también es utilizada para controlar las moscas y demás insectos en los habitáculos de los animales domésticos y plagas que afectan la salud pública (mosquitos y cucarachas).

#### 3.4.1. CARACTERÍSTICAS DE LA CIPERMETRINA

- **Nombres químicos:** Cipermetrina; Supercypermethrin; Beta-cipermetrina
- **Fórmula molecular:**  $C_{22}H_{19}Cl_2NO_3$
- **Peso molecular:** 416.298 g / mol
- **Estructura 2d:**

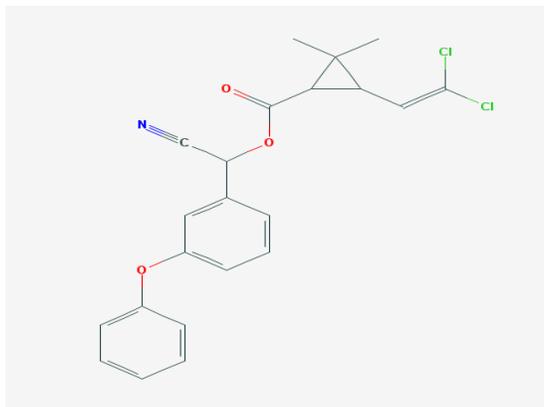


Figura 2. Estructura de la Cipermetrina a [pubchem.ncbi.nlm.nih.gov](http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov)

- **Estructura 3d:**

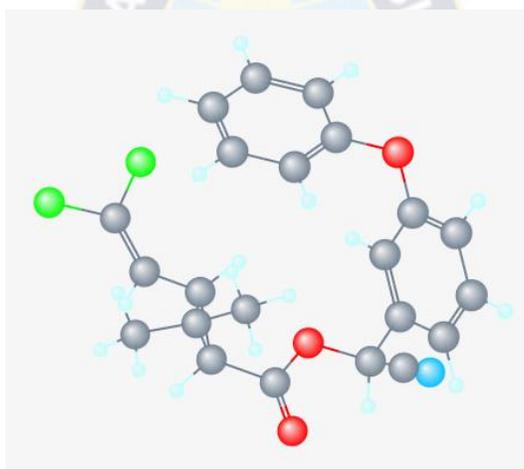


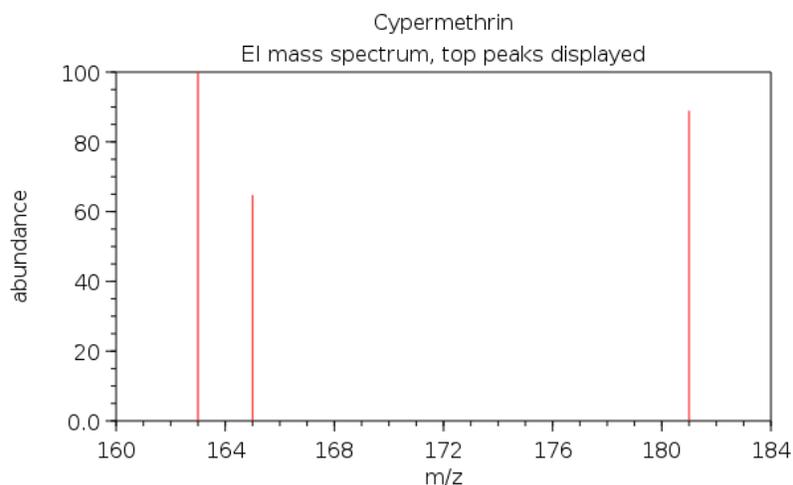
Figura 3. Cipermetrina, estructura 3D [pubchem.ncbi.nlm.nih.gov](http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov)

- **Nombre IUPAC:**  
(1RS)-cis,trans-3-(2,2-diclorovinil)-2,2-dimetilciclopropano carboxilato de (RS)-ciano-3-Fenoxibencilo
- **Descripción física:** Amarillo viscoso líquido-pasta de olor característico.
- **Color:** semisólidos, incoloros (isómeros puros)
- **olor :** Inodoro
- **Punto de fusión:** 70 ° C
- **Solubilidad:** Soluble en metanol , acetona , xileno, diclorometano  
En acetona , cloroformo , ciclo hexanona.  
En el agua ,  $4 \times 10^{-3}$  mg / L a 20 ° C
- **Densidad:** 1,25 g / cm<sup>3</sup> a 20 g ° C
- **Presión de vapor:**  $1.7 \times 10^{-9}$  mm Hg a 20 ° C
- **LogP:** log K<sub>ow</sub> = 6,60

- **Estabilidad:** Relativamente estables en medios neutros y ligeramente ácida, con una estabilidad óptima a pH 4. Hidrolizada en medio alcalino. Relativamente estable a la luz en situaciones de campo. Térmicamente estable hasta 220 °C.
- **Descomposición:** Cuando se calienta a descomposición emite humos tóxicos de / cianuro , óxidos de nitrógeno, cloruro /.a 220 ° C
- **Corrosividad:**  
No corrosivo para los metales.
- **Propiedades espectrales:**

GC-MS	
Número NIST	291.856
biblioteca	biblioteca principal
Picos totales	214
m / z en Peak	163
m / z segunda más alta	181
m / z tercera más alta	165

**Tabla 1.** Propiedades cipermetriana. [pubchem.ncbi.nlm.nih.gov](http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov)



**Figura4.** Espectro de masas. 2014 by the U.S. secretary of commerce

### 3.4.2. LAS EVALUACIONES DEL COMITÉ MIXTO FAO / OMS DE EXPERTOS EN ADITIVOS ALIMENTARIOS

- **Nombre químico:** CIPERMETRINA
- **IDA:** 0-0,02 mg / kg de peso corporal

Año de evaluación: 2004

- **Comentario:** Cipermetrina contiene típicamente 20-40%  $\alpha$ -cipermetrina, que son los dos isómeros más toxicológicamente activos de cipermetrina. A medida que la proporción de isómeros en comerciales cipermetrina productos es variable, la toxicidad de estos productos también varía. JECFA concluyó que como  $\alpha$ -cipermetrina solo y cipermetrina son cualitativamente similares en su toxicidad y el metabolismo, y en vista del hecho de que la cipermetrina incluye una proporción sustancial de  $\alpha$ -cipermetrina, la ADI de 0 a 0,02 mg / kg de peso corporal.
- **Programa de Pesticidas de datos del USDA**  
Niveles de tolerancia para alimentos se presentan en **ANEXO A**
- **Mecanismo de acción:** Insecticidas piretroides sintéticos son neurotoxinas siguen el modelo de las piretrinas naturales.

### 3.4.3. IDENTIFICACIÓN:

#### 3.4.3.1. MÉTODOS ANALÍTICOS DE LABORATORIO

- Método: AOAC 998.01;

Procedimiento: cromatografía de gases con detector de captura de electrones; Analizado: cipermetrina; Matriz: trigo, naranjas y tomates; Límite de detección: no proporcionado.

- Método: OSHA PV2063;

Cromatografía de gases usando un detector de captura de electrones.

Procedimiento Analizado: cipermetrina; Matriz: aire; Límite de detección: 0,014 mg / m<sup>3</sup>.

- Método: USGS-NWQL O-2002-01

Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas;  
Procedimiento Analizado: cipermetrina; Matriz: filtra naturalización agua  
Límite de detección: 0.0011 ug / L.

- Por cromatografía líquida de gases con detector de ionización de llama  
Residuos determinados por cromatografía líquida de gases con detector de captura de electrones. El agua se determina por cromatografía de gases con detector de captura de electrones; aire determinado por cromatografía de gases capilar con detector de nitrógeno fósforo.

#### 3.4.4. TOXICIDAD

- **Información Toxicológica:** Carcinógeno
- **La clasificación del cáncer:** Grupo C Posible carcinógeno humano  
Oficina de Programas de Pesticidas de la USEPA, División Efectos de la Salud, Ciencias de la Información rama Administración.  
(*Guía de Bolsillo del NIOSH sobre Peligros Químicos*)

#### 3.5. CLORPIRIFOS.-

##### 3.5.1. CARACTERÍSTICAS GENERALES:

- **Nombres químicos:** clorpirifos;; Dursban; Trichlorpyrphos ; Lorsban
- **Fórmula molecular:**  $C_9H_{11}Cl_3NO_3PS$
- **Peso molecular:** 350.575 g / mol
- Clorpirifos es un inhibidor de la colinesterasa de organotiofosfatos que se utiliza como insecticida.  
El clorpirifos es un insecticida que es un cristal-como un sólido blanco con un olor fuerte. No se mezcla bien con el agua , por lo que generalmente se mezcla con líquidos aceitosos antes de que se aplica a los cultivos o animales. También se puede aplicar a los cultivos en una forma de cápsula. Clorpirifos ha sido ampliamente utilizado en los hogares y en las granjas. En la granja, que se utiliza para el control de garrapatas en el ganado y como un spray para el control de plagas de los cultivos.
- **Nombre IUPAC:** O, O-dietil O-3,5,6-trichloropyridin-2-il fosforotioato

- **Estructura 2D:**

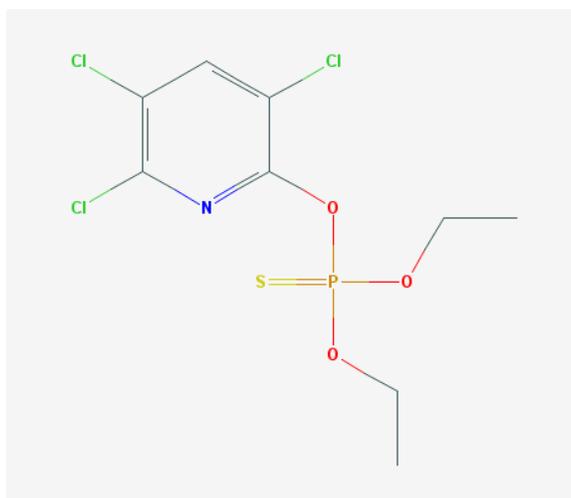


Figura 5. Estructura clorpirifos [pubchem.ncbi.nlm.nih.gov](http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov)

**Estructura 3D:**

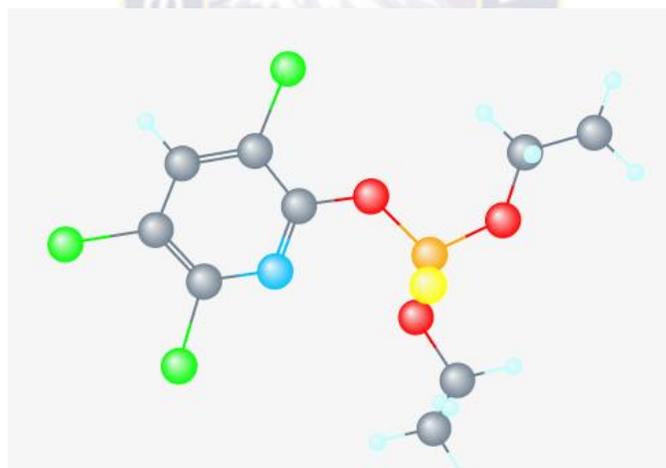


Figura 6. Estructura Clorpirifos 3D, [pubchem.ncbi.nlm.nih.gov](http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov)

### 3.5.2. PROPIEDADES QUÍMICAS Y FÍSICAS:

#### 3.5.2.1. DESCRIPCIÓN FÍSICA

- **Propiedades experimentales**

Las formulaciones comerciales pueden combinarse con líquidos

- El clorpirifos es un sólido cristalino de color blanco o irregularmente en copos sólido. Tiene un olor de tipo mercaptano muy débil. No es soluble en agua. Puede causar una ligera irritación en los ojos y la piel.
- **Color:** Incoloro a blanco sólido cristalino
- **Olor:** a mercaptanos
- **Punto de ebullición:** 320 ° F a 760 mm Hg (se descompone) (NIOSH, 2016)
- **Punto de fusión:** 41-42 ° C
- **Punto de inflamabilidad:** 82 °F (cerrado)
- **Solubilidad:** En el agua , 1,4 mg / L a 25 ° C
- **Solubilidad a 25 ° C:** iso-octano 79% peso / peso; metanol 43% peso / peso
- **Densidad:** 1,44 a 20 °C
- **Presión de vapor:**  $2.02 \times 10^{-5}$  mm Hg a 25 ° C
- **LogP:**  $\log K_{ow} = 4,96$
- **Estabilidad:** Estable bajo las condiciones de almacenamiento recomendadas
- **Descomposición:** Temperatura de descomposición: aprox. 160 °C
- **Clase química:** Organofosforados y carbamatos

### 3.5.3. PROPIEDADES ESPECTRALES:

- **Intensos picos de masa espectral:** 97 m / z (100%), 197 m / z (97%), 199 m / z (94%) ,314 m / z (64%)
- **Intensos picos del espectro de masas:** 286 m / z, 349 m / z
- **Max UV:** 208, 230, y 290 nm

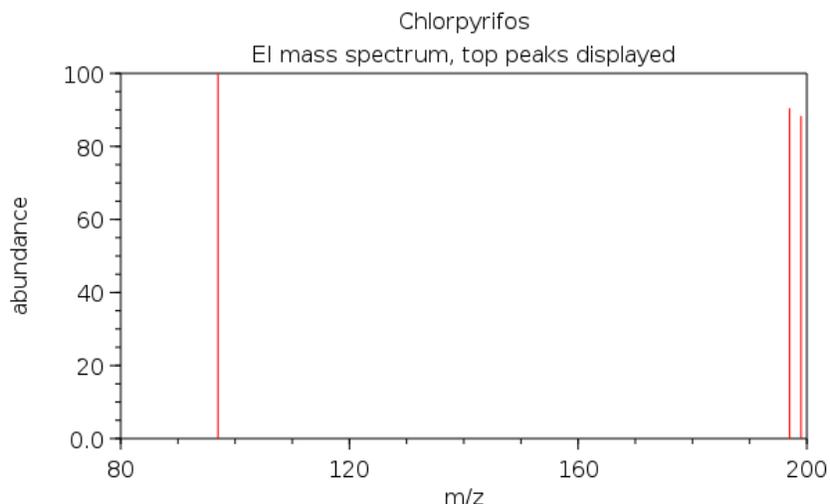


Figura 7. Espectro de masas. 2014 by the U.S. secretary of commerce

### 3.5.4. LAS INTERACCIONES BIOQUIMICAS

Los insecticidas organofosforados se han conocido durante muchos años para causar crisis colinérgica en los seres humanos como resultado de la inhibición de la enzima acetilcolinesterasa crítica. Las interacciones de los activados, metabolitos de insecticidas tóxicos (denominados oxones) con la acetilcolinesterasa se han estudiado ampliamente durante décadas.

### 3.6. SULFOTEP.-

#### 3.6.1. CARACTERÍSTICAS GENERALES:

- **Nombres químicos:** sulfotep; sulfotepp; Dithiophos; Dithion; TEDP; TEDTP
- **Fórmula molecular:**  $C_8 H_{20} O_5 P_2 S_2$
- **Peso molecular:** 322.311 g / mol
- **Nombre IUPAC:** ditiopirofosfato de O,O,O,O-tetraetilo

- **Estructura 2D:**

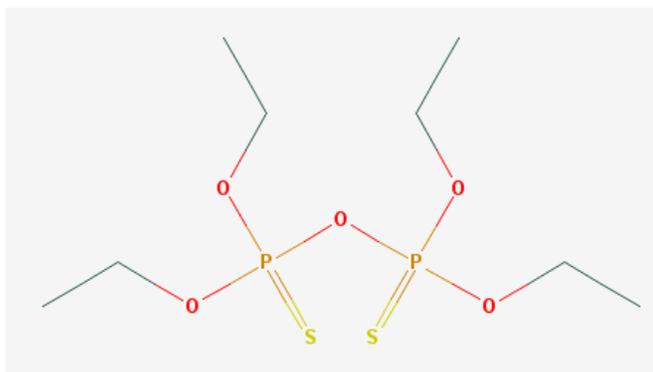


Figura 8. Estructura Sulfotep 3D, pubchem.ncbi.nlm.nih.gov

- **Estructura 3D:**

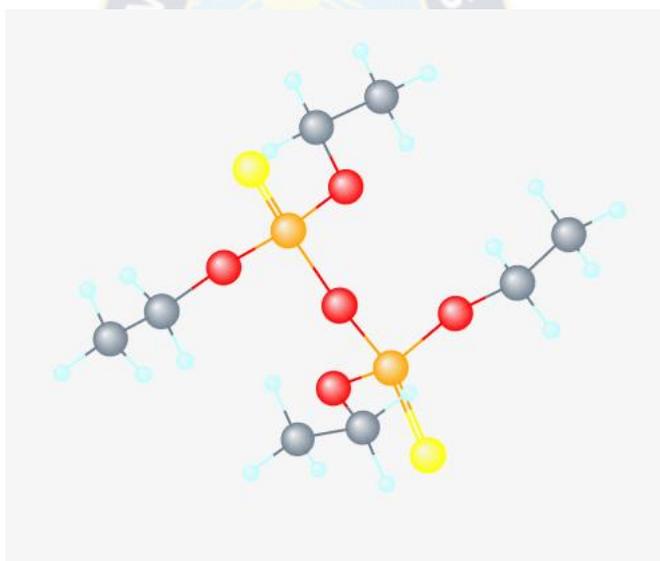


Figura 9. Estructura Sulfotep 3D, pubchem.ncbi.nlm.nih.gov

### 3.6.2. PROPIEDADES QUÍMICAS Y FÍSICAS

- **Descripción física:** líquido de color amarillo pálido con un olor parecido al ajo. Un pesticida que puede ser absorbido en un vehículo sólido o se mezcla en un líquido más inflamable
- **Color:** aceite líquido móvil amarillo pálido
- **Olor:** Posee un olor a ajo
- **Punto de ebullición:** 136-139 ° C @ 2 mm Hg
- **Punto de inflamabilidad:** No combustible (EPA, 1998)

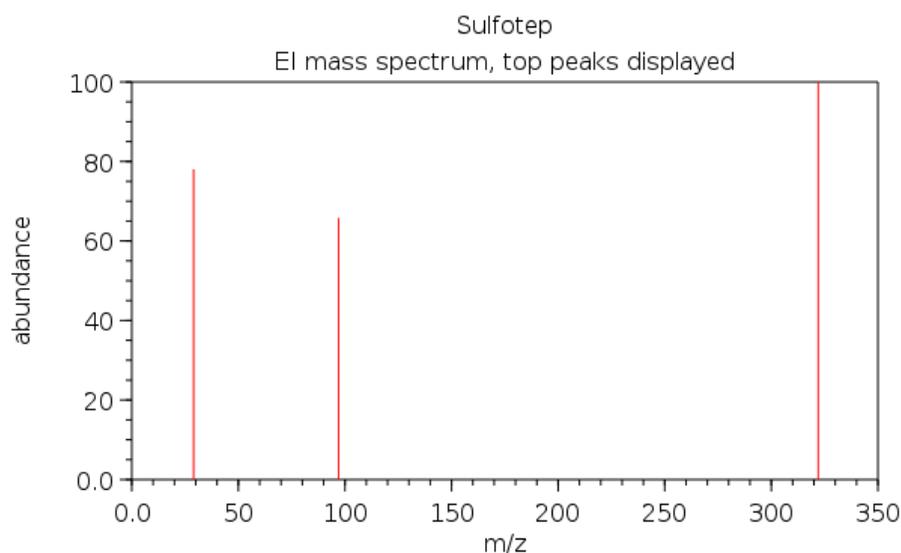
- **Solubilidad:** Miscible en n-hexano , diclorometano , 2-propanol , tolueno  
Sol, en agua, 30 mg / l @ 20 ° C
- **Densidad:**1.196 @ 25 ° C / 4 ° C
- **Presión de vapor :**1.05X10<sup>-4</sup> mm Hg a 20 ° C
- **LogP:** log K<sub>ow</sub> = 3,99
- **Estabilidad:** Hidroliza muy lentamente en solución acuosa.
- **Descomposición:** Cuando se calienta hasta la descomposición emite humos tóxicos de óxidos de fósforo / azufre y óxidos /.DT50 (estimado) 10,7 días (pH 4), 8,2 7 días (pH), 9.1 días (pH 9) (22 ° C)

### 3.6.3. PROPIEDADES ESPECTRALES

- Intensos picos de masa espectral: 322 m / z (100%), 202 m / z (53%), 97 m / z (48%), 266 m / z (39%)
- Índice de refracción: 1.4753 a 25 °C y sodio luz

GC-MS	
Número NIST	125497
biblioteca	biblioteca principal
Picos totales	184
m / z en Peak	322
m / z segunda más alta	29
m / z tercera más alta	97

*Tabla2. Propiedades sulfotep. pubchem.ncbi.nlm.nih.go*



*Figura 10. Espectro de masas.2014 by the U.S. secretary of commerce*

**MECANISMO DE ACCIÓN:** es aproximadamente la mitad tan tóxico como paratión aguda su principal efecto tóxico es la inhibición de la colinesterasa, inhibidor de la colinesterasa

**Estabilidad y reactividad:** Las reacciones de aire y agua Insoluble en agua. Grupo reactivo Ésteres de sulfato, ésteres, fosfato ésteres, ésteres, tiofosfato y borato Ésteres anhídridos.

**Toxicidad:** Información Toxicológica. No puede ser clasificado como un carcinógeno humano

**3.7. MÉTODOS EMPLEADOS EN EL ANÁLISIS DE RESIDUOS DE PESTICIDAS EN ALIMENTOS** El análisis de pesticidas en alimentos está sujeto a la complejidad de la matriz y a las concentraciones bajas a las cuales estos compuestos están presentes. Por lo tanto, la extracción de los residuos constituye el paso más crítico. Este paso consiste en la extracción de los analitos desde su matriz con un disolvente apropiado, opcionalmente se puede realizar la remoción de sustancias que podrían causar interferencias mediante varios pasos de limpieza y finalmente, la reducción del volumen del disolvente en el extracto antes del análisis instrumental (*Patnaik, P., 2004*).

Después de la extracción, el análisis se continúa comúnmente con la separación de los analitos empleando cromatografía de gases (GC) o cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), acopladas a uno o varios detectores selectivos para la determinación, identificación y cuantificación de residuos de pesticidas.

### **3.7.1. MÉTODOS DE EXTRACCIÓN DE RESIDUOS DE PESTICIDAS EN ALIMENTOS.**

El reto en la extracción de pesticidas es maximizar la recuperación de los analitos y minimizar las interferencias mediante el uso de una extracción apropiada. El proceso de extracción comienza con separar los analitos de la matriz y presentar el material en una forma que pueda analizarse más fácilmente. La extracción selectiva de analitos se basa en sus diferentes características y propiedades químicas y físicas, como: peso molecular, carga, solubilidad, polaridad, volatilidad.

Se han propuesto muchas opciones para el pre-tratamiento y extracción de residuos de pesticidas en alimentos. En la mayoría de estas, el proceso de extracción usualmente involucra la homogenización de la muestra con un disolvente orgánico, solo o en mezcla, usando un homogeneizador, mezcla

desconocida como extracción líquido-líquido o extracción sólido-líquido, dependiendo de la naturaleza de la muestra.

### 3.7.2. EXTRACCIÓN CON DISOLVENTES ORGÁNICOS.

Es la técnica más usada, principalmente por la facilidad de uso y la amplitud de aplicación. El proceso de extracción varía ligeramente dependiendo si la muestra es líquida o sólida. Las muestras sólidas se homogenizan antes de la extracción mediante la molienda, mezclado, agitado, aplastado, macerado, presurizado y pulverizado. Después, una porción se licúa o agita con un disolvente orgánico o con una mezcla de diferentes disolventes orgánicos. Después de agitar correctamente, puede centrifugarse y la fase orgánica se evapora para obtener un volumen pequeño, o a la fase orgánica se le agrega sulfato de magnesio anhidro ( $\text{MgSO}_4$ ) para eliminar el agua presente en la muestra. , el  $\text{MgSO}_4$  se separa, mediante centrifugación o filtración, y el sobrenadante se concentra o inyecta directamente en el cromatógrafo de gases.

Generalmente es necesario evaporar o concentrar el extracto para disminuir el volumen del disolvente. La concentración ayuda a reducir los límites de detección.

Ya que las muestras alimenticias son complejas, suelen ser necesarios pasos de limpieza, para eliminar pigmentos, proteínas, azúcares y ácidos grasos que interfieren con la detección de pesticidas a niveles de trazas y aunque éstos consumen tiempo, se incluyen para evitar contaminación del sistema de GC, de esta manera se reduce la cantidad de interferencias que provocan pérdida de resolución, aunque aumenta el costo del análisis (Columé, A. et al., 2001).

El acetonitrilo es un disolvente polar, miscible en agua pero con suficientes propiedades dispersivas (hidrofóbicas) para extraer eficientemente tanto residuos de pesticidas polares como no polares desde alimentos no grasos.

Se prefiere en el análisis de rutina de laboratorios por su simplicidad, rapidez y altas recuperaciones de compuestos que se encuentran en un amplio intervalo de polaridad. (Garrido-Frenich, A. et al., 2004 y 2005; Martínez-Vidal, J. L. et al., 2002 y 2006).

Otras técnicas de extracción empleadas para análisis de pesticidas en alimentos son QuEChERS que es la abreviación en inglés de las palabras: rápido, fácil, barato, efectivo, robusto y seguro; extracción con fluidos supercríticos, extracción dispersiva en fase sólida, extracción en fase sólida y micro-extracción en fase sólida, extracción asistida con microondas, entre otras. En la Tabla 3 se muestran

algunos de los análisis de pesticidas en vegetales empleando diferentes técnicas de extracción, se observan los disolventes empleados y los pesticidas detectados en dicho análisis.

Técnica de extracción	Disolvente	Pasos de limpieza	Pesticidas identificados	Referencia
QuEChERS*	Acetonitrilo	Extracción dispersiva en fase sólida	Isocarbofos, metil isofenfos	Fernández-Moreno, J. L. <i>et al.</i> , 2008 Mezcua, M. <i>et al.</i> , 2009 Lambropoulou, D. A.; Albanis, T. A., 2007 Garrido-Frenich, A. <i>et al.</i> , 2004 y 2005 Martínez-Vidal, J. L. <i>et al.</i> , 2006
	Acetato de etilo	---	De 31 a 130 pesticidas multi-clase	
Sólido-líquido	Acetonitrilo	Extracción dispersiva en fase sólida	78 pesticidas multiclase	Lambropoulou, D. A.; Albanis, T. A., 2007
		---	151 pesticidas multi-clase	Plaza-Bolaños, P. <i>et al.</i> , 2007
	Diclorometano	---	72 pesticidas multi-clase	Lambropoulou, D. A.; Albanis, T. A., 2007
		---	Endosulfán, metamidofos, metalaxil	Martínez-Vidal, J. L. <i>et al.</i> , 2002
		---	Pesticidas clorados	Butler, J.; Conoley, M., 2007.
Acetona	---	Clorpirifos	Lambropoulou, D. A.; Albanis, T. A., 2007	
Líquido-líquido	Acetona, éter y diclorometano	Extracción en fase sólida	13 pesticidas multi-clase	Araoud, M. <i>et al.</i> , 2007
Fluidos supercríticos	CO <sub>2</sub>	---	Pesticidas multi-clase	Lambropoulou, D. A.; Albanis, T. A., 2007
Asistida con microondas	---	Micro-extracción en fase sólida	Bifentrin, acrinatrin, deltametrin y λ-cihalotrin	Lambropoulou, D. A.; Albanis, T. A., 2007

\*QuEChERS: rápido, fácil, barato, efectivo, robusto y seguro.

Tabla3. Técnicas de extracción, Martínez-Vidal, 2002

### 3.7.3. MÉTODOS DE SEPARACIÓN, IDENTIFICACIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE PESTICIDAS.

Una vez obtenido el extracto orgánico, la mezcla de pesticidas se separa mediante técnicas instrumentales como cromatografía de gases (GC) o cromatografía líquida de alta resolución (HPLC). La identificación y cuantificación de los pesticidas se realiza con detectores selectivos que se encuentran acoplados al equipo de GC ó HPLC. Las técnicas cromatográficas permiten una aproximación eficiente en el análisis de pesticidas. La espectrometría de masa (MS) generalmente se prefiere como detector y sus resultados típicamente son incuestionables (Rubinson, K. A.; Rubinson, J. F., 2001).

En el análisis de pesticidas es importante cubrir el aspecto cuantitativo y cualitativo.

Una respuesta cuantitativa no debe darse sin un grado aceptable de conocimiento cualitativo para que el resultado de la medición esté relacionado solamente con el analito y no con algo más. Es importante entender tres conceptos en el análisis de pesticidas.

1. La determinación es un resultado cuantitativo que se obtiene a partir de un método que alcanza un desempeño aceptable para el propósito del análisis (cromatografía de gases (GC) con detector selectivo de un elemento).
2. La identificación es un resultado cualitativo de un método capaz de proveer información estructural (detección MS) que es aceptable para el propósito del análisis. La confirmación es la combinación de dos o más análisis que aportan el mismo resultado (idealmente usando métodos de selectividad ortogonal, basados en diferentes mecanismos químicos).
3. La confirmación requiere que un resultado confirme el otro, así al menos se necesitan dos análisis. (Rubinson, K. A.; Rubinson, J. F., 2001).

### 3.7.3.1. TÉCNICAS DE SEPARACIÓN: CROMATOGRAFÍA.

La cromatografía permite separar entre sí los componentes de una sustancia, y su gran aplicabilidad se debe a la variedad de condiciones que pueden utilizarse para separar dichos componentes. Se pueden utilizar fases móviles distintas (gases, líquidos o fluidos supercríticos) y fases estacionarias distintas (minerales, polímeros orgánicos e inorgánicos o sólidos recubiertos de líquidos) (Rubinson, K. A.; Rubinson, J. F., 2001).

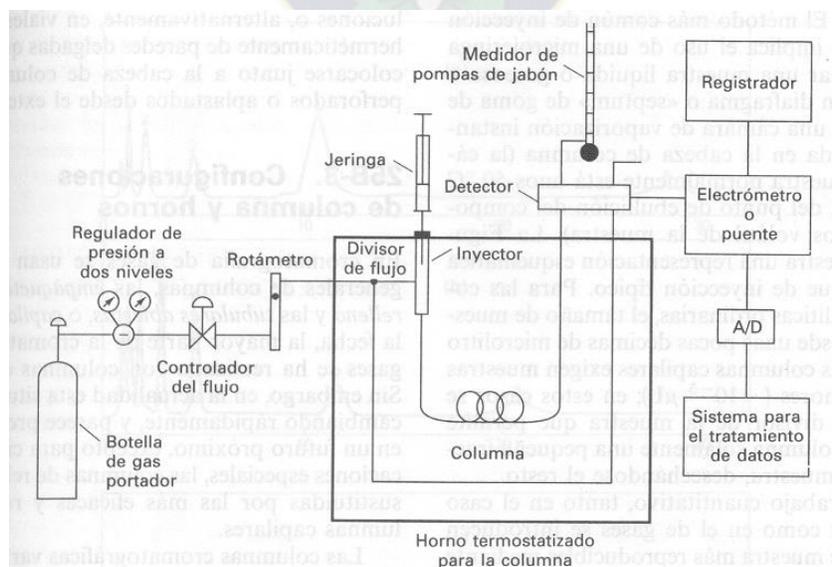


Figura 11. Esquema de un cromatógrafo de gases

La elección entre la GC y HPLC depende de las características fisicoquímicas de los pesticidas. La GC se emplea principalmente para pesticidas que se vaporizan fácilmente sin degradarse, con puntos de ebullición por debajo de los 250°C y polaridades bajas o intermedias en el análisis. En cambio, HPLC se utiliza para pesticidas muy polares que no son fácilmente vaporizables, con puntos de ebullición por encima de los 200°C y que son lábiles.

Actualmente el análisis de pesticidas mediante GC, involucra el uso de columnas capilares, las cuales poseen diámetros internos (d.i.) menores a 1 mm, paredes generalmente recubiertas de una película de fase estacionaria.

Las columnas capilares empleadas en la GC para el análisis de pesticidas en alimentos habitualmente poseen una fase estacionaria generalmente de polímeros de polisiloxano o polietilenglicoles. Además, debido a que los pesticidas en la muestra son de polaridad baja, las columnas capilares son de polaridad baja y se prefieren aquellas con menor sangrado (ms) y superficies inertes. Las columnas capilares *Factor Four* de Varian Inc. y las de *Agilent Technologies* son las más utilizadas en los análisis de residuos de pesticidas.

- **Cromatografía gas-líquida**

Detectores:

ECD (Detector de captura de electrones). Tiene alta sensibilidad para compuestos halogenados como plaguicidas organoclorados y menor para algunos piretroides sintéticos.

TSD (Detector termiónico específico para nitrógeno y fósforo). Tiene alta sensibilidad para compuestos organofosforados y algunos N-metilcarbamatos con menor sensibilidad.

MASA. Este detector nos da una óptima confirmación de resultados debido a la información sobre tiempo de retención y espectro de masa. Trabajando en modo SCAN monitoreamos todo el espectro m/e y podemos identificar comparando con datos de biblioteca (Nist, Wiley, Flegler, Tox y particulares) pero llegamos para algunos compuestos a 0,1 ppm. La sensibilidad aumenta en modo SIM donde se eligen iones específicos y característicos del plaguicida que se quiere confirmar. Para tener sentido confirmatorio se deben considerar por lo menos tres fragmentos de distinta relación m/e. Se alcanzan para algunos plaguicida 0,01 ppm.

Tipo	Características	Referencia
Conductividad térmica	Detector universal Mide cambios en la conducción del calor. Se emplea para identificar hidrocarburos, medir hidrógeno o aire en CO <sub>2</sub>	Rubinson, K. A.; Rubinson, J. F. 2001
Ionización de llama (flama)	Detector universal Mide corrientes iónicas de pirólisis. Sólo para hidrocarburos pues permite detectar los iones de C que se forman durante la combustión a temperatura alta. La mayor desventaja es que no puede emplearse para detectar H <sub>2</sub> O, N <sub>2</sub> y CO <sub>2</sub>	Rubinson, K. A.; Rubinson, J. F. 2001
Captura de electrones	Detector selectivo para compuestos que contiene átomos con afinidad electrónica elevada Se emplea para identificar pesticidas organoclorados. Empleado en análisis de frutas, vegetales, jugos, cereales, especias, nueces, carne, pescado, queso, entre otros. Proveen resultados ambiguos. Está sujeto a interferencias por la matriz	Pang, G.-F. <i>et al.</i> , 2006 Kotretsou, S. I. <i>et al.</i> , 2006
Fotométrico de llama y nitrógeno-fósforo	Detector selectivo para compuestos que contienen S ó P y N ó P, respectivamente Detectan pesticidas organofosforados. Proveen resultados ambiguos. Están sujetos a interferencias por la matriz	Uresti-Martín, R. M. <i>et al.</i> , 2008 Rubinson, K. A.; Rubinson, J. F. 2001 Kotretsou, S. I. <i>et al.</i> , 2006

Tipo	Características	Referencia
Detector Hall	Detector específico para compuestos que contienen un halógeno, S ó N	Rubinson, K. A.; Rubinson, J. F. 2001
Detector infrarrojo de transformada de Fourier	Moléculas polares En análisis de composición química y propiedades físicas, puede proporcionar información en tiempo real. Puede realizar análisis cuantitativo de compuestos orgánicos, inorgánicos y sales	Rubinson, K. A.; Rubinson, J. F. 2001
Espectrometría de masa (MS)	Detector universal - Un analizador de masa: Altamente sensible para la elucidación estructural de compuestos químicos. Herramienta útil debido a la disponibilidad de bibliotecas con espectros de pesticidas. Popular en el análisis de contaminantes en alimentos	Lehotay, S. J. <i>et al.</i> , 1997
	- Captura de iones o trampa de iones: Adecuada cuando se emplea la extracción con fluidos supercríticos. Ahorra tiempo, esfuerzo y dinero debido a su habilidad para cuantificar y confirmar una variedad de analitos a concentraciones de trazas en una matriz compleja con una simple inyección. Permite realizar masa en cascada multi-etapa	Rubinson, K. A.; Rubinson, J. F. 2001. Martínez-Vidal, J. L. <i>et al.</i> , 2002
	- Triple cuadrupolo (QqQ): Permite realizar masa/masa o en cascada (MS/MS). Selectividad y sensibilidad en ppm y ppt de pesticidas en muestras complejas como frutas y vegetales. Permite detallar la información estructural de un ión fragmento o la identificación de compuestos encontrados en estas mezclas complejas. El incremento de selectividad de esta técnica reduce la influencia de la matriz y también de los límites de detección bajos	Kotretsou, S. I. <i>et al.</i> , 2006

**Tabla 4.** Propiedades de los detectores para GC.

## Principio de funcionamiento del cromatógrafo de gases:

La separación se efectúa porque los diferentes componentes de la mezcla de gases interactúan con la fase fija. Los que más sean afines a la fase fija, tardan más en salir del tubo y los otros tardan menos. Con este principio, la separación de los componentes.

Luego, a la salida pones un detector que analiza los gases y te informa que componente sale primero y cuál después, a medida que sale se van quemando y por la cantidad de calor sabemos la cantidad y por el tiempo en que salen la sustancia que es y la concentración de cada componente.

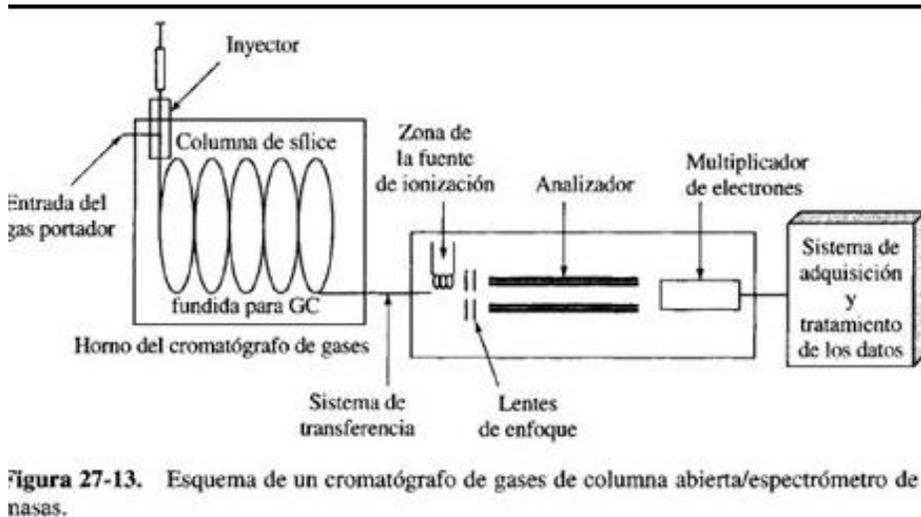


Figura 27-13. Esquema de un cromatógrafo de gases de columna abierta/espectrómetro de masas.

## UN PROCESO GC-MS

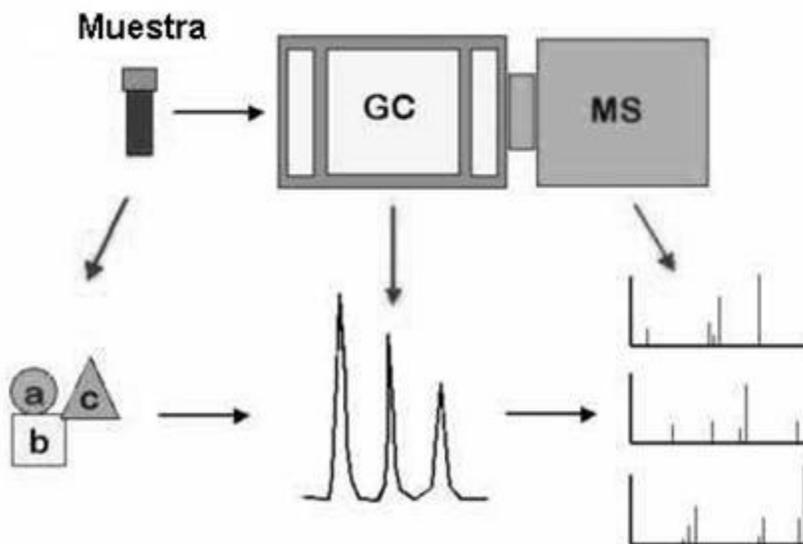


Figura 12. Esquema de un cromatógrafo de gases/masas

### 3.7.4. QUINUA:

La **quinua** o **quínoa**, (*Chenopodium quinoa*), es un pseudocereal de la familia Chenopodiaceae que se produce en los Andes de Argentina, Bolivia, Chile, Colombia, Ecuador y el Perú además de los Estados Unidos, siendo Bolivia el primer productor mundial seguido de Perú y los Estados Unidos.

Fue cultivada en los Andes bolivianos principalmente y también en los ecuatorianos y peruanos desde hace unos 5.000 años. Este cultivo, al igual que la papa fue uno de los principales alimentos en muchos pueblos andinos de la antigüedad preincaica.

### 3.7.4.1. VALOR NUTRITIVO

Un alimento es valorado por su naturaleza química, por las transformaciones que sufre al ser ingerido y por los defectos que produce en el consumidor.

La quinua constituye uno de los principales componentes de la dieta alimentaria de la familia de los Andes, fue base nutricional en las principales culturas americanas.

La Quinua como proteína vegetal ayuda al desarrollo y crecimiento del organismo, conserva el calor del organismo, conserva el calor y energía del cuerpo, es fácil de digerir, forma una dieta completa y balanceada.

### 3.7.4.2. COMPOSICION NUTRICIONAL DE LA QUINUA

Componentes	Contenido de 100 g de parte comestible	Valores diarios recomendados(basado en una dieta de 2000 calorías)
Calorías	351	
Humedad	9.40 - 13 %	
Carbohidratos	53.50 - 74.30 g	300 g
Fibra	2.10 - 4.90 g	25 g
Grasa Total	5.30 - 6.40 g	66 g
Lisina	6.80 - 8.50 g	
Proteínas	11.00 - 21.30 g	
Metionina	2.1 mg	
Treonina	4.5 mg	
Triptófano	1.3 mg	

Tabla 5. Fuente: U. Bracco, Nestlé Research Centre

## CAPÍTULO 4

### 4.1. JUSTIFICACIÓN.-

El uso de plaguicidas en Bolivia se remonta a la década de los años 50. Luego de la revolución del año 1952 en la cual la propiedad de la tierra pasó a manos del campesino, junto con la implementación de la denominada “marcha hacia el oriente”, se produjo como consecuencia una importante migración a la amazonía boliviana y el comienzo del uso de plaguicidas.

La importación de plaguicidas fue incrementándose de manera importante desde el año 1994 cuando el registro de ese año alcanzó las 2000 toneladas de las cuales el 65% eran herbicidas, 23% insecticidas, 7% fungicidas y un 5% destinado para otros usos, con un crecimiento anual del 12%. Para marzo de 1997 ingresaron legalmente a Bolivia 426 insumos agrícolas comerciales y en el año 1999 se importaron 10.000 toneladas de plaguicidas. El registro de agroquímicos para el 31 de diciembre de 2000 mostró 1084 agroquímicos de los cuales 857 eran plaguicidas. Cabe mencionar también el incremento elevado del uso de fertilizantes estimado en 364.924 Kg para el año 1997 y de 35.420.130 para el año 2006



Figura 13. Datos de importaciones en Bolivia, PLAGBOL

Problemática del uso de plaguicidas en Bolivia:

En general son muchos los factores que afectan la ocurrencia de las intoxicaciones por plaguicidas en el país, pese a los esfuerzos realizados en los últimos años. Entre aquellos podemos destacar los siguientes:

- Uso indiscriminado de plaguicidas.
- Escasa o inadecuada información.
- Falta de medidas de inspección, vigilancia y control por parte de las autoridades sanitarias.
- Debilidad del Sistema de Vigilancia en Salud Pública de los plaguicidas
- Poca cobertura de programas de capacitación, falta de continuidad y seguimiento a los procesos y desintegración por parte de las entidades ejecutoras de los mismos.

Es importante contar en el país con laboratorios que brinden servicios de análisis de alimentos, y más aún sobre análisis de trazas de pesticidas.

El con el presente trabajo se pretende tener un método óptimo, a la hora de analizar (CIPERMETRINA, CLORPIRIFOS, SULFOTEP.) en muestras de quinua. Ya que a partir de los resultados se darán inicio a varios trabajos posteriores como el análisis de trazas, la validación del análisis, y la acreditación del Laboratorio LABSER.

Para sustentar los resultados de los análisis de residuos de pesticidas (cipermetrina, clorpirifos, sulfotep.) realizados en alimentos, es primordial emplear técnicas y metodologías sistemáticas que permitan la extracción, separación, identificación y cuantificación, Conocer los rendimientos más factibles a la hora de analizar quinua.

Para posteriormente realizar la validación los métodos considerando varios parámetros de calidad, entre ellos, precisión (repetitividad y reproducibilidad), límites de detección (LDD) y límites de cuantificación (LDC).

Con los resultados del presente trabajo también se puede sugerir el uso de un estándar interno adecuado, que tenga casi las mismas características del analito a cuantificar.

## **CAPÍTULO 5**

### **5. DATOS DE LA EMPRESA.-**

#### **LABSER S.R.L.**

Laboratorio que presta servicios de análisis de alimentos y aguas, con una amplia gama de ensayos fisicoquímicos, toxicológicos, nutricionales y microbiológicos, atendiendo las necesidades de los clientes, autoridades reguladoras y otros

actores de la cadena alimentaria, en el marco del control de la inocuidad y calidad de los alimentos.

LABSER SRL, que consiste en un moderno laboratorio que presta servicios de análisis de alimentos y aguas, con una amplia gama de ensayos fisicoquímicos, toxicológicos, nutricionales y microbiológicos. El emprendimiento es una iniciativa de profesionales bolivianos que apostaron por la innovación tecnológica y de análisis químicos del agua y los alimentos, además tuvo apoyo de la Cooperación Europea y del Programa de Apoyo al Sector Privado. El uso de estos componentes debe ser regulado y además deben estar enmarcados dentro los límites aceptables y de acuerdo a norma. Por ello, el laboratorio prestará su servicio al público en general, para la identificación de químicos nocivos. El laboratorio presta servicios a autoridades reguladoras y a otros actores de la cadena alimentaria, en el marco del control de la inocuidad y calidad de los alimentos, entre otros. Además, LABSER SRL prevé dar respuesta a las necesidades también de los productores agrícolas, industria alimenticia, sociedad en conjunto, así como de organismos de control privado y estatal, debido a que en la actualidad no existe un laboratorio de esta gama de servicios que permita realizar análisis. En los siguientes días, en el marco de la norma 17025 de acreditación y cumpliendo las normas nacionales e internacionales. El moderno laboratorio se encuentra en la ciudad de El Alto, ubicado en la zona Senkata Urbanización virgen del Carmen, avenida 12 de Diciembre número 2824. Para mayor información, los interesados pueden contactarse a través de la página, [www.labser.com.bo](http://www.labser.com.bo) - [info@labser.com.bo](mailto:info@labser.com.bo), o llamar al teléfono + 591- 280 8257.

(Fuente: [www.labser.com.bo](http://www.labser.com.bo))



**Figura 15.** Moderno laboratorio LABSER SRL.

## CAPÍTULO 6

### 6. METODOLOGÍA.-

La extracción sólido-líquido QuEChERS y la GC-MS permiten la separación, identificación y cuantificación inequívoca de los pesticidas, CIPERMETRINA, CLORPIRIFOS, SULFOTEP, (entre algunos de la gran variedad) en ppm presentes en la quinua.

El método presenta un rendimiento, el cual obtiene un valor tras en el estudio y aplicación de los componentes de matriz del analito. Entonces para obtener un rendimiento alto se deben optimizar las condiciones del método se pretende realizar un estudio adicionando un patrón a una muestra orgánica (que no presente pesticidas) y obtener el rendimiento de la extracción y lavado.

Para el desarrollo del proyecto se propuso la realización de etapas, las cuales contienen tareas y actividades que permitían secuencialmente ir cumpliendo los objetivos específicos y finalmente la culminación del trabajo de investigación.

Las etapas en las que se divide el proyecto son:

#### 6.1. ETAPA DE ANALISIS PRELIMINAR

Caracterizar los reactivos de extracción y además de caracterizar las moléculas de los pesticidas cipermetrina, clorpirifos y sulfotep. Teniendo en cuenta sus propiedades fisicoquímicas dentro de la matriz y posibles resultados a la hora de la extracción y lavado.

Familiarizarse con el funcionamiento y manejo de programas en el equipo. Cromatógrafo GC/MS

#### 6.2. ETAPA DE EXPERIMENTACIÓN.-

Para la fase de experimentación se pretenden realizar las siguientes actividades:

- 1) Se preparan las curvas de calibración a partir de patrones CIPERMETRINA, CLORPIRIFOS, SULFOTEP previamente una solución madre de 10  $\mu\text{g/mL}$  y posteriormente preparar soluciones para los puntos 0,5; 0,3; 0,2; 0,1; 0,08; 0,05; 0,03  $\mu\text{g/mL}$

- 2) Extracción sólido-líquido de los pesticidas en quinua, chía y sésamo empleando acetonitrilo como disolvente. Utilizando sobres de sales QuEChERS Agilent, sobres de sales QuEChERS, Supelco, sales del método QuEChERS como reactivos sigma por pesaje.
- 3) Para el lavado, se analizan las variables de las sales de lavado: Agilent, supelcoZsep+, Supelco Z sep/C18, y por pesaje de las sales como reactivos sigma.
- 4) Verificar el cumplimiento las condiciones de operación en el equipo de GC-MS, establecido por método QuEChERS según norma EN para pesticidas empleado en laboratorio LABSSER SRL.
- 5) Realizar barridos cromatográficos (GC/MS) de las extracciones salen según el tiempo de retención, en SCAN que muestra todos los picos que tenga la matriz y en SIM que muestra solo los picos de interés para posteriormente obtener el área del pico a una concentración y así la comparación de los resultados con la de la curva de calibración.
- 6) Caracterizar según los tiempos de retención de los cromatogramas los pesticidas y posibles moléculas interferentes.
- 7) Realizar variables en la extracción con diferentes sales de extracción y lavado.
- 8) Realizar un análisis de los cromatogramas, para cada pesticida considerando los iones producto cuantificadores y la relación de áreas entre éste y el estándar interno.
- 9) Obtener el rendimiento de extracción de los plaguicidas (CIPERMETRINA, CLORPIRIFOS, SULFOTEP) y determinar el más óptimo para muestras de quinua.

### **6.3. ETAPA DE ANÁLISIS DE DATOS**

- Procesamiento de datos.
- Presentación e interpretación de los resultados.

## CAPITULO 7

### 7. MATERIAL Y REACTIVOS:

El presente trabajo de investigación se realizó en los predios de Laboratorios LABSER SRL; Los materiales y reactivos fueron dotados por el Laboratorio, donde las características de los materiales y reactivos utilizados son:

#### 7.1. MUESTRAS:

Las muestras fueron dotadas en los mismos laboratorios, de procedencia de la empresa SINDAN ORGANIC. Siendo materia de exportación a Europa

##### 7.1.2 MUESTRA DE QUINUA:

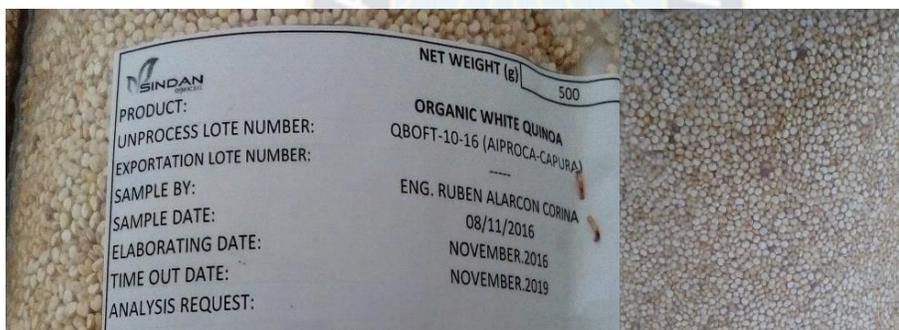


Figura 16. muestras de quinua , fuente propia.2016

#### 7.2. PATRONES DE PESTICIDAS:

PESTICIDA	PUREZA	MARCA	CONCENTRACION	SOLVENTE
CIPERMETRINA	96.7%	accuStandar	10000µg/ml	Acetonitrilo
CLORPIRIFOS	98%	accuStandar	1000 µg/ml	Acetonitrilo
SULFOTEP	99.4%	accuStandar	1000 µg/ml	Hexano

TABLA 6. Datos de los certificados accuStandar



Figura 16. muestras de quinua , fuente propia.2016

### 7.3. SOLVENTE:

Solvente	Pureza	grado	Marca	Símbolo
ACETONITRILO	99.98%	HPLC	SIGMA	ACN

TABLA 7. Datos de los certificados Sigma

### 7.4. REACTIVOS PARA LA EXTRACCIÓN, MÉTODO QUECHERS:

Reactivo	Descripción	Pureza %	Marca	Foto
Sobre QuEChERS	Cloruro de sodio 1g. Sulfato de Magnesio 4 g Citrato de sodio 1g Citrato acido de sodio sesquihidratado 0.5 g.	NO DISPONE	AgilentTechnologies	
Supel Que: citrate/sodiumbicarbonate 55237-U	Cloruro de sodio 1g. Sulfato de Magnesio 4 g Bicarbonato de Sodio 5g Citrato de sodio 1g Citrato acido de sodio sesquihidratado 0.5 g.	99.5 98.5 99.9 99.2 98.5	SUPELCO	
Citrato acido de sodio sesquihidratado	0.5 g.	99.5	SIGMA	
Sulfato de Magnesio	4 g	97.2	SIGMA	

Citrato de sodio	1g	98.5	SIGMA	
Cloruro de sodio	1g.	99.8	SIGMA	

**TABLA 8.** Datos reactivos

### 7.5 REACTIVOS PARA EL LAVADO FORMULACION SEGÚN METODO:

Reactivo	Descripción	Pureza %	Marca	Foto
DISPERSIVE 2MI, Fatty Samples en w/ch	PSA 25 mg. C18EC 25mg sulfato de magnesio 150 mg.	N/D* N/D* 98.5	Agilent Technologies	
SupelQuE Z- Sep/MgSO <sub>4</sub> tube 55417-U	20 mg Z-sep 150 mg MgSO <sub>4</sub>	N/D*	SUPELCO	
SupelQuE Z- Sep/C18 tube55284-U	20 mg Z-sep 50 mg C18	N/D*	SUPELCO	
PSA	25 g.	99.5	SIGMA	
Sulfato de Magnesio	150 mg.	97.2	SIGMA	
C18	10mg	98.5	Agilent Technologies	
carbón grafito	8mg.	99.8	SIGMA	

**TABLA 9.** Datos reactivos \*N/D no dispone

### 7.6. OTROS REACTIVOS:

- Sulfato magnésico anhidro >98% (MgSO<sub>4</sub>)
- PSA (referencia 12213024)
- Acetonitrilo (MeCN)

- Citrato sódico tribásico
- Citrato sódico dibásico sexquihidrato
- Cloruro sódico (CINa)
- Disoluciones de patrones de plaguicidas.
- Hidróxido de sodio
- Ácido fórmico al 5%

### **7.7. MATERIALES, APARATOS Y EQUIPOS:**

- Tubo centrifuga Falcón de 50 ml.
- Matraz de fondo redondo de 50ml.
- Mortero de porcelana de 150 ml
- Balanza analítica.
- Dispensador de disolvente de 15 ml y botella de 2.5 L
- Centrífuga para tubos Falcón de 50 ml
- Mini centrífuga para tubos Falcón de 15 ml.
- Agitador Vortex.
- Espátulas.
- Pipetas automáticas.
- Pipetas Pasteur.
- Embudos.
- Viales de 2 ml con tapón de rosca y septum para inyector automático.
- Insertos para viales de 450  $\mu$ l.
- Papel pH
- Tubos de centrifuga de 2 ml
- Equipo GC/MSD 5977B de inyección automática.

## **CAPITULO 8**

### **8. METODOLOGÍA**

#### **8.1. PREPARACIÓN DE LAS SOLUCIONES PATRÓN.-**

- Preparar una solución madre de 10  $\mu$ g/mL de CIPERMETRINA, CLORPIRIFOS y SULFOTEP, a partir de patrones.

- Preparar diluciones en viales de 2 ml, para concentraciones de: 0,5; 0,3; 0,2; 0,1; 0,08; 0,05; 0,03  $\mu\text{g/mL}$  en CIPERMETRINA, CLORPIRIFOS Y SULFOTEP, utilizando ACETONITRILLO como disolvente
- Realizar las curvas por triplicado

## 8.2. PREPARACIÓN DEL SULFATO MAGNÉSICO ANHIDRO.-

- Calentar el Sulfato magnésico anhidro a 500 °C durante 5 horas en la mufla previa a su uso para eliminar los ftalatos.

## 8.3. PREPARACIÓN DE LA MUESTRA.-

- Cuartear una muestra de 100g de QUINUA ORGANICA, de la cual se debe realizar la molienda con molino para material seco de muestra y homogeneizarla, guardándola en cajas Petri boca ancha.
- Pesar 5.000 g. de quinua molida y Fortificar la quinua con una solución mix de los patrones pesticidas para obtener una concentración de 0.3  $\mu\text{g/ml}$  de pesticida.

## 8.4. EXTRACCIÓN DE PESTICIDAS EN LA QUINUA.-

### 8.4.1. EXTRACCIÓN A:

- Pesar en tubo Falcón de 50 ml 5 g de muestra.
- Añadir 10 ml de agua tipo 1 a 4°C
- Añadir 10 ml Acetonitrilo
- Añadir patrón de Mix (CIPERMETRINA, CLORPIRIFOS,SULFOTEP) concentración final de 0.3  $\mu\text{g/mL}$
- Añadir, 4 g de  $\text{MgSO}_4$  activado, 1 g de  $\text{ClNa}$ , 1 g de Citrato sódico tribasico y 1,5 g de Citrato sódico dibásico sesquihidratado
- Tapar el tubo y agitar en vortex durante 120 s. Introducirlos en la centrífuga y centrifugar durante 5 min a 5000 rpm.
- Separar la fase orgánica en un tubo falcón de 15 mL.
- Refrigerar durante 2 h. a -20°C
- Se toma 1ml de la fase orgánica sobre un tubo centrifuga en el que previamente se han pesado 0,150 g de  $\text{MgSO}_4$  y 0,025 g de PSA, 0.010 g de carbón grafito y 0.010 g de C18, centrifugando en la mini centrífuga durante 5 min a 5000 rpm.
- Se toma una alícuota de 400  $\mu\text{l}$  del sobrenadante en un tubo de inserto vial y se le adiciona 6  $\mu\text{l}$  de ácido fórmico al 5% en Acetonitrilo.

- Realizar la prueba por triplicado.

#### 8.4.2. EXTRACCIÓN B:

- Pesar en tubo Falcón de 50 ml 5 g de muestra.
- Añadir 10 ml de agua tipo 1 a 4°C
- Añadir 10 ml Acetonitrilo
- Añadir patrón de Mix (CIPERMETRINA, CLORPIRIFOS, SULFOTEP) concentración final de 0.3 µg/mL
- Añadir, un Sobre QuEChERS (Agilent Technologies)
- Tapar el tubo y agitar en vortex durante 120 s. Introducirlos en la centrífuga y centrifugar durante 5 min a 5000 rpm.
- Separar la fase orgánica en un tubo falcón de 15 mL.
- Refrigerar durante 2 h. a -20°C
- Se toma 1ml de la fase orgánica sobre un tubo centrifuga Dispersive 2ml, Fatty Samples en w/ch, centrifugando en la mini centrífuga durante 5 min a 5000 rpm.
- Se toma una alícuota de 400 µl del sobrenadante en un tubo de inserto vial y se le adiciona 6 µl de ácido fórmico al 5% en acetonitrilo.
- Realizar la prueba por triplicado.

#### 8.4.3. EXTRACCIÓN C:

- Pesar en tubo Falcón de 50 ml 5 g de muestra.
- Añadir 10 ml de agua tipo 1 a 4°C
- Añadir 10 ml Acetonitrilo
- Añadir patrón de Mix (CIPERMETRINA, CLORPIRIFOS, SULFOTEP) concentración final de 0.3 µg/mL
- Añadir, sales de SupelQuE: citrate/sodiumbicarbonato 55237-U, tapar el tubo y agitar vortex durante 120 s. Introducirlos en la centrífuga y centrifugar durante 5 min a 5000 rpm.
- Separar la fase orgánica en un tubo falcón de 15 mL.
- Refrigerar durante 2 Horas a -20°C
- Se toma 1ml de la fase orgánica sobre un tubo centrifuga SupelQuE Z-Sep/MgSO<sub>4</sub> tube55417-U más 0.010g de carbón grafito, centrifugando en la mini centrífuga durante 5 min a 5000 rpm.
- Se toma una alícuota de 400 µl del sobrenadante en un tubo de inserto vial y se le adiciona 6 µl de ácido fórmico al 5% en Acetonitrilo.
- Realizar la prueba por triplicado.

#### 8.4.4. EXTRACCIÓN D:

- Pesar en tubo Falcón de 50 ml 5 g de muestra.
- Añadir 10 ml de agua tipo 1 a 4°C
- Añadir 10 ml Acetonitrilo
- Añadir patrón de mix (CIPERMETRINA, CLORPIRIFOS, SULFOTEP) concentración final de 0.3 µg/mL
- Añadir, sales de SupelQuE: citrate/sodiumbicarbonato 55237-U Tapar el tubo y agitar vortex durante 120 s.
- Introducirlos en la centrifuga y centrifugar durante 5 min a 5000 rpm.
- Separar la fase orgánica en un tubo Falcón de 15 mL.
- Refrigerar durante 2 Hrs a -20°C
- Se toma 1ml de la fase orgánica sobre un tubo centrifuga SupelQuE Z-Sep/C18 tube55284-U más 0.010g de carbón grafito, centrifugando en la mini centrifuga durante 5 min a 5000 rpm.
- Se toma una alícuota de 400 µl del sobrenadante en un tubo de inserto vial y se le adiciona 6 µl de ácido fórmico al 5% en acetonitrilo
- Realizar la prueba por triplicado.

#### 8.5. DETERMINACIÓN CROMATOGRÁFICA.-

##### 8.5.1. PARA LAS CURVAS DE CALIBRACION:

- Se toman los viales de las soluciones patrón y con la ayuda del software se realiza el barrido cromatográfico en SCAN en el equipo GC/MSD 5977B de inyección automática.
- Se determinan los tiempos de retención de los pesticidas
- En el equipo con el detector de masas se reconoce las moléculas observando su abundancia de los iones.
- Se determina el área del pico en SIM y se realiza la curva con las diferentes concentraciones

##### 8.5.2. PARA LAS MUESTRAS

- Se toman los viales de las muestras, más el blanco de acetonitrilo y con la ayuda del software se realiza el barrido cromatográfico en SCAN en el equipo GC/MSD 5977B de inyección automática.
- Se determinan los tiempos de retención de los pesticidas

- En el equipo con el detector de masas se reconoce las moléculas observando su abundancia de los iones.
- Se determina el área del pico en SIM

### 8.5.3. ELABORACIÓN DE LA CURVA DE CALIBRACIÓN:

- Se grafica la curva área vs. Concentración.
- Se ajusta por regresión lineal.
- Se obtiene la ecuación de la recta y el factor de correlación.
- Se calcula la concentración del plaguicida en la muestra
- Se calcula el valor del coeficiente de rendimiento del método.

## CAPITULO 9

### 9. PARTE EXPERIMENTAL

#### 9.1. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

##### 9.1.1. PREPARACIÓN DE LAS SOLUCIONES PATRÓN:

- Se prepara una solución madre MIX de 10  $\mu\text{g}/\text{mL}$  de CIPERMETRINA, CLORPIRIFOS Y SULFOTEP a partir de patrones. Del cual se realizó las diluciones en viales de 2 ml, para concentraciones de: 0,5; 0,3; 0,2; 0,1; 0,08; 0,05; 0,03  $\mu\text{g}/\text{mL}$  en CIPERMETRINA, CLORPIRIFOS y SULFOTEP, utilizando acetonitrilo como disolvente, las curvas son por triplicado.



Figura 17 preparación de soluciones en viales, fuente propia.2016

### 9.1.2. PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

- Se realizó el respectivo cuarteo de una muestra de 100 g. de quinua de los cuales se debe realizar la molienda con mortero, 6 g. de muestra homogenizada, guardándola en cajas Petri.



*Figura 18* preparación de la muestra y molienda, fuente propia.2016

### 9.1.3. EXTRACCIÓN A, EXTRACCIÓN B, EXTRACCIÓN C y EXTRACCIÓN D:

- Se pesó 5,0000 g de muestra molida y fortificada (de pesticidas) en tubo Falcón de 50 ml , y se añadió 10 ml de agua tipo 1 fría, después de añadir 0.03ml de la solución madre de mix 10  $\mu\text{g}/\text{mL}$  (CIPERMETRINA, CLORPIRIFOS, SULFOTEP) y completar a 10 ml con Acetonitrilo,
- Se añadió para cada prueba, las sales de extracción: Extracción A: Extracción B: Extracción C: Extracción D: según metodología a distintas muestras, se tapó el tubo y agito en vortex durante 120 s. e introducirlos en la centrifuga y centrifugar durante 5 min a 5000 rpm.



**Figura 19** Separación de fases, fuente propia.2016

- Se separa la fase orgánica en un tubo Falcón de 15 mL. Y se deja refrigerar durante 2 horas. a  $-20^{\circ}\text{C}$



**Figura 20.** Extracto de la fase organica, fuente propia.2016

- Se toma 1ml de la fase orgánica, sobre un tubo centrifuga de las sales de lavado según el caso Extracción A, Extracción B, Extracción C, Extracción D y se adiciona 0.010 g de Carbón grafito, se centrifuga durante 5 min a 5000 rpm.

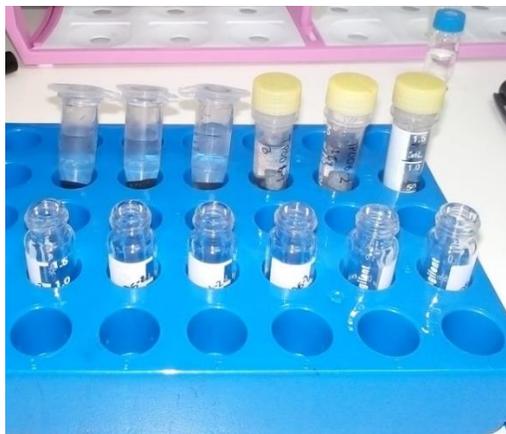


Figura 21segundo lavado, fuente propia.2016

- Se toma una alícuota de 400  $\mu$ l del sobrenadante en un tubo de inserto vial y se le adiciona 6  $\mu$ l de ácido fórmico al 5% en Acetonitrilo.



Figura 22,muestra en viales, fuente propia.2016

#### 9.1.4. DETERMINACIÓN CROMATOGRÁFICA

Se utilizó el cromatógrafo GC/MSD agilent 5977B



Figura 23 GC/MSD agilent 5977B, fuente propia.2016

#### 9.1.4.1 EL SOFTWARE PARA LA INYECCIÓN:

- El equipo cuenta con diversos programas, el que se utilizó GCMS059778/ENHANCED MASS HUNTER el cual ayuda a colocar la SECUENCIA muestras con inyección automática de 3  $\mu$ l de muestra por barrido, además permite realizar lavados con el solvente.

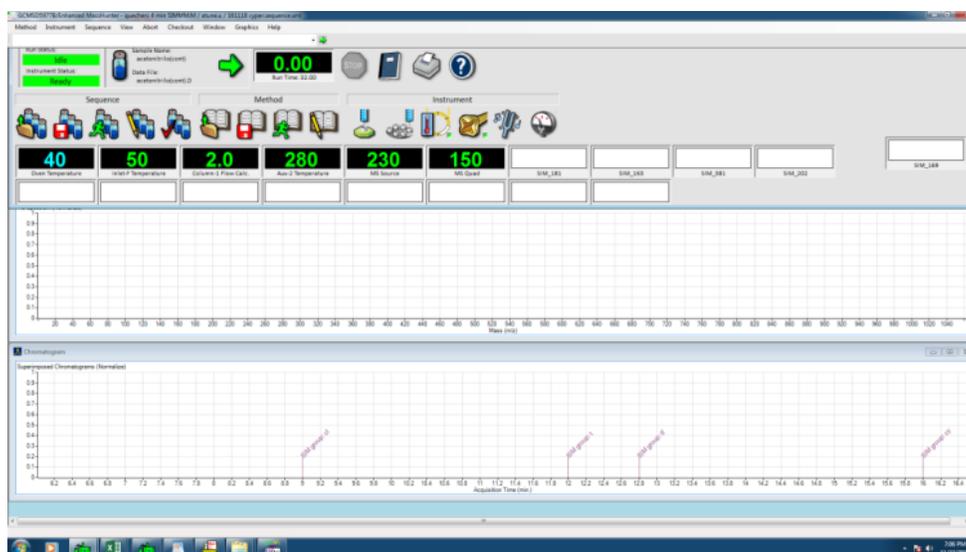


Figura 24, GC/MSD agilent 5977B programa para la inyección, fuente LABSER .2016

#### 9.1.4.2. COMATOGRAMA Y SELECCIÓN DE LOS TIEMPOS DE RETENCIÓN

- En el equipo con el detector de masas se reconoce las moléculas observando su abundancia de los iones con la ayuda del programa **Enhanced data análisis**, tras un barrido de SCAN.
- Se determina el área de los picos fragmentos de iones. Seleccionando los rangos de interés en SIM.

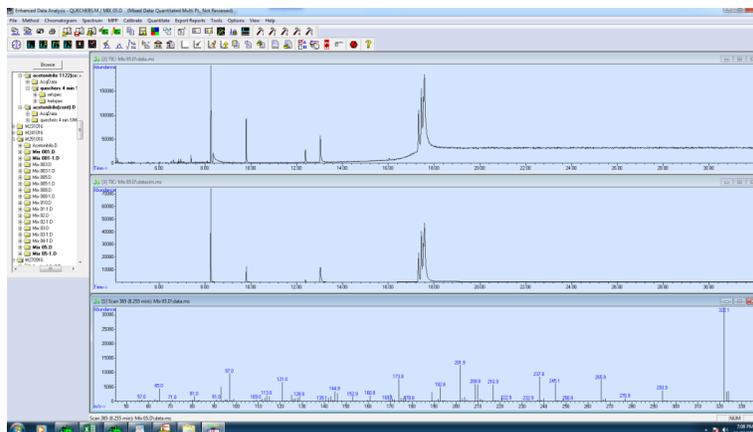


Figura 25, GC/MSD agilent 5977B programa para el analisis(Enhanced data análisis) ,2016

- Se toman los viales de las muestras más el blanco de acetonitrilo y con la ayuda del software se realiza el barrido cromatografico en SCAN en el equipo GC/MSD 5977B de inyección automática.
- Se determinan los tiempos de retención de los pesticidas
- Para el reconocimiento de las moléculas se utiliza el programa del detector de masas comparando con la bibliografía del equipo.

### Pesticida: CIPERMETRINA

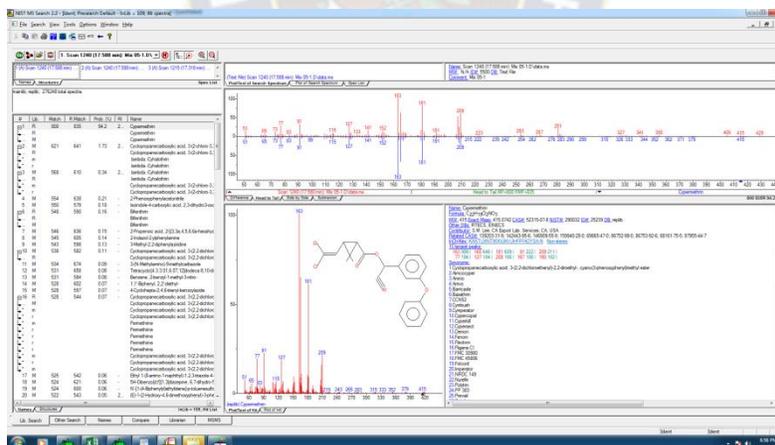


Figura 26, programa para el analisis (Enhanced data análisis) ,2016

### Pesticida: CLORPIRIFOS

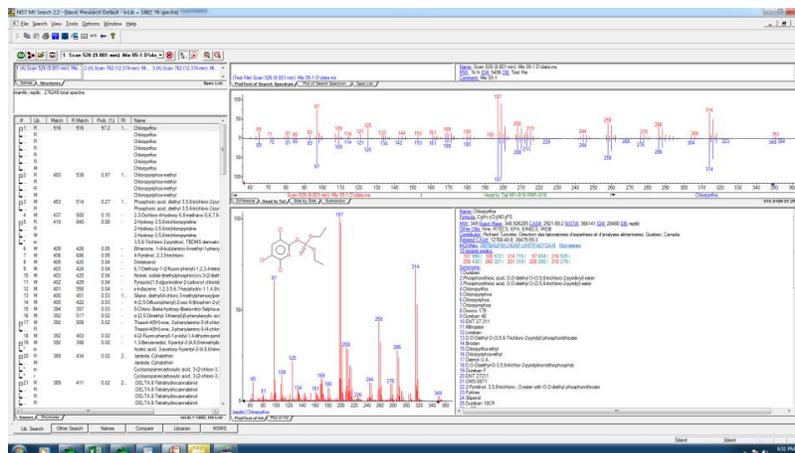


Figura 27. programa para el analisis (Enhanced data análisis) ,2016

## Pesticida: SULFOTEP

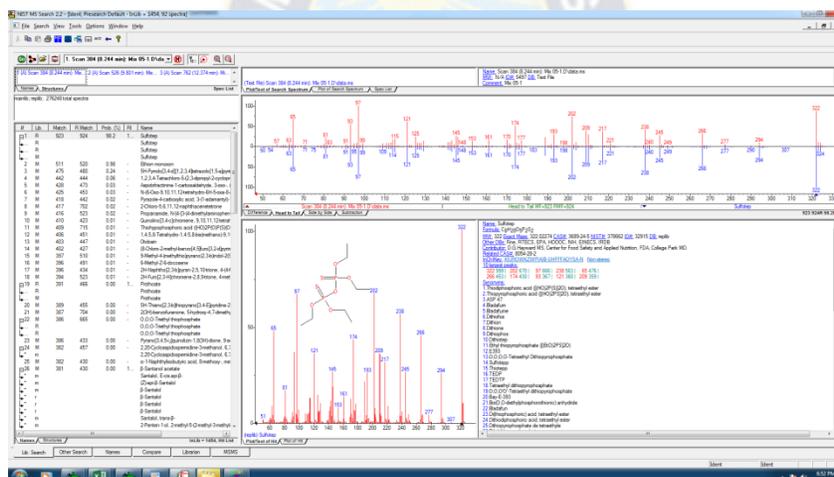


Figura 28. programa para el analisis(Enhanced data análisis) ,2016

- Después se agrupan los datos para la curva de calibración, obteniendo áreas de un ion el molecular.
- Se selecciona las áreas integradas para cada concentración de la curva patrón y también para las muestras obteniendo unas tablas muy extensas las cuales dan información de las áreas para distintos iones. Como ejemplo tenemos las áreas de los diferentes picos de iones para el SULFOTEP, de este modo se armó la curva de calibración con el ion molecular.

## EJEMPLO DE DATOS DEL ÁREA PARA EL SULFOTEP:

Áreas para los iones 322.00; 96.7;202 ; 65 ; 238 para las concentraciones de 0.15, 0.13, 0.1 µg/ml

Ion 322.00 (321.70 to 322.70): Mixpre015.D\data.ms Mixpre0.15						Ion 322.00 (321.70 to 322.70): Mixpre013.D\data.ms Mixpre0.13						Ion 322.00 (321.70 to 322.70): Mixpre01.D\data.ms Mixpre0.1									
Peak #	Ret Time	Type	Width	Area	Start Time	End Time	Peak #	Ret Time	Type	Width	Area	Start Time	End Time	Peak #	Ret Time	Type	Width	Area	Start Time	End Time	
1	8,264	BV	0,014	179364	8,24	8,329	1	8,263	BB	0,013	149762	8,24	8,329	1							
Ion 97.00 (96.70 to 97.70): Mixpre015.D\data.ms Mixpre0.15						Ion 97.00 (96.70 to 97.70): Mixpre013.D\data.ms Mixpre0.13						Ion 97.00 (96.70 to 97.70): Mixpre01.D\data.ms Mixpre0.1									
1	8,262	BV	0,022	98018	8,231	8,314	1	8,261	BB	0,025	90315	8,235	8,32	1							
Ion 202.00 (201.70 to 202.70): Mixpre015.D\data.ms Mixpre0.15						Ion 202.00 (201.70 to 202.70): Mixpre013.D\data.ms Mixpre0.13						Ion 202.00 (201.70 to 202.70): Mixpre01.D\data.ms Mixpre0.1									
1	8,263	BB	0,02	97819	8,24	8,31	1	8,263	BB	0,02	84533	8,24	8,315	1							
Ion 65.00 (64.70 to 65.70): Mixpre015.D\data.ms Mixpre0.15						Ion 65.00 (64.70 to 65.70): Mixpre013.D\data.ms Mixpre0.13						Ion 65.00 (64.70 to 65.70): Mixpre01.D\data.ms Mixpre0.1									
1	8,262	BB	0,02	56766	8,24	8,313	1	8,261	BV	0,014	50512	8,24	8,3	1							
Ion 238.00 (237.70 to 238.70): Mixpre015.D\data.ms Mixpre0.15						Ion 238.00 (237.70 to 238.70): Mixpre013.D\data.ms Mixpre0.13						Ion 238.00 (237.70 to 238.70): Mixpre01.D\data.ms Mixpre0.1									
1	8,263	BB	0,014	58461	8,24	8,306	1	8,263	BB	0,014	47863	8,24	8,282	1							

**TABLA 10** Áreas a las diferentes concentraciones con el tiempo de retención del pesticida

## CAPITULO 10

### 10. RESULTADOS Y DISCUSIONES

La muestra de quinua fortificada a 0.3  $\mu\text{g/mL}$  con MIX (CIPERMETRINA, CLORPIRIFOS, SULFOTEP.) para el cálculo se preparó tomando 3 $\mu\text{g}$  (300 de  $\mu\text{L}$  del patrón de 10  $\mu\text{g/mL}$ ) pesticida, se tomó en cuenta que el volumen del solvente es 10 ml.

#### 10.1 DATOS DE LAS CONDICIONES DE OPERACIÓN DEL EQUIPO:

Por motivos del laboratorio LABSER no se podrán mostrar las condiciones del equipo ya que es un método comprado y de carácter confidencial ajenos a la empresa.

Solo se muestran los espectros del barrido comatografico **ANEXO C** del solvente y las áreas una vez conocidos los tiempos de retención de cada pesticida.

#### 10.2 TIEMPOS DE RETENCIÓN PARA LOS PESTICIDAS:

Tras el análisis en el espectro de masas, se determinó el tiempo de retención en la columna:

Pesticida	Tiempo de retención (Min)	Probabilidad %
CLORPIRIFOS	9.816	93.1
CIPERMETRINA	17.65	85.4
SULFOTEP	8.254	98.5

TABLA 11. Datos de los tiempos de retención calculados

#### 10.3 PARA LAS CURVAS DE CALIBRACIÓN

##### 10.3.1. DATOS PARA LA CURVA DE CALIBRACIÓN CLORPIRIFOS:

Se obtuvieron las siguientes áreas integradas relativas para cada concentración.

Eje x				Eje y
Concentración	Área 1	Área 2	Área 3	Promedio

µg/mL				Área
0,5	1676843	1676843	1676843	<b>1676843</b>
0,3	822343	812343	752343	<b>795676,333</b>
0,2	299078	499078	469078	<b>422411,333</b>
0,1	63332	73332	68332	<b>68332</b>
0,05	23777	23777	23777	<b>23777</b>

TABLA 11. Datos de areas para cada concentracion

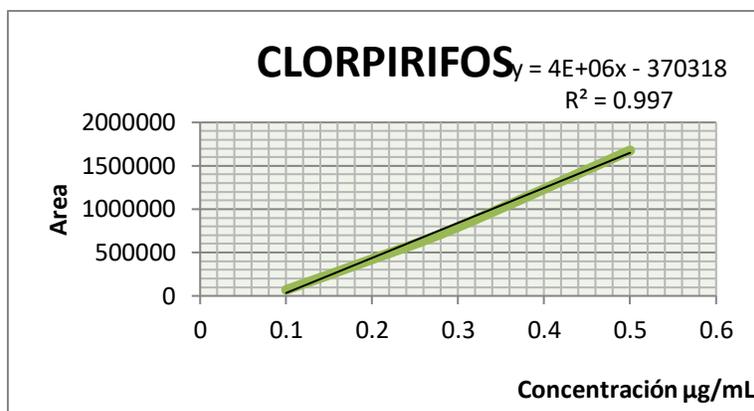


Figura 28. Grafico de la curva de calibracion para el cloropirifos

- Ecuación de la recta:  $y = 4 \cdot 10^6 x - 370318$
- Coeficiente de correlación:  $R^2 = 0,997$

### 10.3.2. CURVA DE CALIBRACIÓN SULFOTEP:

Se obtuvieron las siguientes áreas integradas relativas para cada concentración.

Eje X				Eje Y
Concentración µg/mL	Área 1	Área 2	Área 3	Promedio Área
0,5	2800291	2800257	2800013	<b>2800187</b>
0,3	1475006	1475006	1475016	<b>1475009,3</b>
0,2	882178	892180	842178	<b>872178,7</b>
0,1	345243	345260	345243	<b>345248,7</b>
0,08	162724	172725	172724	<b>169391</b>
0,05	96467	96470	96467	<b>96468</b>
0,03	43684	43674	43674	<b>43677,3</b>

TABLA 12. Datos de areas para cada concentracion

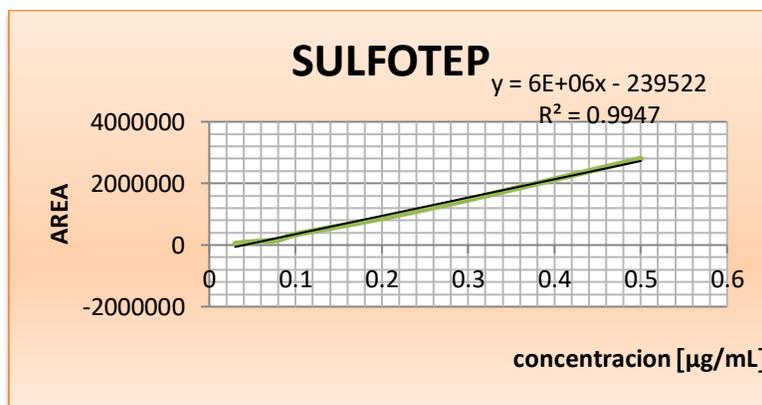


Figura 29. Grafico de la curva de calibracio para el sulfotep

- Ecuación de la recta:  $y = 6E+06x - 239522$
- Coeficiente de correlación:  $R^2 = 0,9947$

### 10.3.3. CURVA DE CALIBRACIÓN CIPERMETRINA:

Se obtuvieron las siguientes áreas integradas relativas para cada concentración.

Eje X				Eje Y
Concentración µg/mL	Área 1	Área 2	Área 3	Promedio Área
0,5	573343	573343	573343	<b>573343</b>
0,3	255129	255129	255129	<b>255129</b>
0,2	146888	146530	146570	<b>146662,667</b>
0,1	47732	45732	47732	<b>47065,3333</b>
0,08	26879	26879	26879	<b>26879</b>

TABLA 13. Datos de areas para cada concentracion

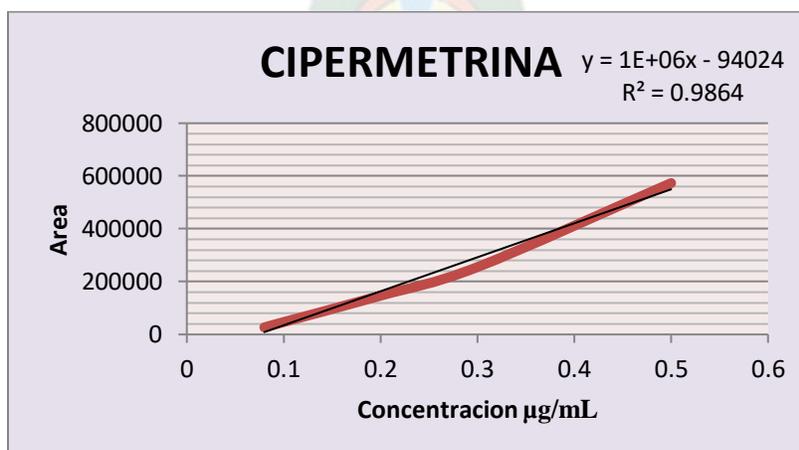


Figura 30. Grafico de la curva de calibracio para la cipermetrina.

- Ecuación de la recta:  $1E+06x - 94024$
- Coeficiente de correlación:  $R^2 = 0,9864$

#### 10.4. CROMATOGRAMAS DE LAS MUESTRAS

Los cromatogramas de las muestras se muestran en el **ANEXO D**

##### 10.4.1 ÁREAS INTEGRADAS POR CADA MUESTRA:

Como se realizaron tres pruebas para cada extracto se obtuvieron las siguientes áreas promedio para cada pesticida.

Muestra	Concentración preparada MIX	Área Cipermetrina	Área Clorpirifos	Área Sulfotep
Extracto A	0.3 µg/mL	125129	412338	875006
Extracto B	0.3 µg/mL	225111	702343	1275333
Extracto C	0.3 µg/mL	205132	722351	1516310
Extracto D	0.3 µg/mL	5127	732343	1175010
Acetonitrilo	-	-	-	-

TABLA 14. Datos de áreas para cada concentración después de la extracción en la muestra

#### 10.5. CALCULO DEL RENDIMIENTO DE LA EXTRACCIÓN

En vista de que las curvas tienen una tendencia lineal, entonces la forma del cálculo para el cálculo del rendimiento de la extracción será la siguiente:

Se utilizará la siguiente ecuación para un punto en las concentraciones (0.3 µg/mL):

$$\%R = \frac{A}{A^{\circ}} \times 100$$

Donde:

- %R= el rendimiento de la extracción
- A = el área integrada del pesticida en la muestra después de la extracción
- A° = el área integrada del pesticida en la curva de calibración.

Realizando el cálculo, los resultados se presentan en las tablas 15, 16 y 17:

**PARA LA CIPERMETRINA:**

Muestra	Concentración preparada	Área A	Área A°	%R
Extracto A	0.3 µg/mL	125129	255129	49.04
Extracto B	0.3 µg/mL	225111	255129	88.23
Extracto C	0.3 µg/mL	205132	255129	80.40
Extracto D	0.3 µg/mL	5127	255129	2.01

TABLA 15. Datos del rendimiento de la extracción Cipermetrina en la muestra

**PARA EL CLOROPIRIFOS:**

Muestra	Concentración preparada	Área A	Área A°	%R
Extracto A	0.3 µg/mL	412338	795676	51.82
Extracto B	0.3 µg/mL	702343	795676	88.27
Extracto C	0.3 µg/mL	722351	795676	90.78
Extracto D	0.3 µg/mL	732343	795676	92.04

TABLA 16. Datos del rendimiento de la extracción Clorpirifos en la muestra

**PARA EL SULFOTEP:**

Muestra	Concentración preparada	Área A	Área A°	%R
Extracto A	0.3 µg/mL	875006	1475009	59.32
Extracto B	0.3 µg/mL	1275333	1475009	86.46
Extracto C	0.3 µg/mL	1516310	1475009	102.8
Extracto D	0.3 µg/mL	1175010	1475009	79.66

TABLA 17. Datos del rendimiento de la extracción Sulfotep en la muestra

Las extracciones sólido-líquido QuEChERS de los pesticidas, con cuatro distintas formulaciones de reactivos de extracción y lavado mostraron los siguientes resultados para una matriz de quinua

Muestra	Concentración preparada MIX	cipermetrina %R	clorpirifos %R	sulfotep %R
Extracto A	0.3 µg/mL	49.04	51.82	59.32
Extracto B	0.3 µg/mL	88.23	88.27	86.46
Extracto C	0.3 µg/mL	80.40	90.78	102.8

Extracto D	0.3 µg/mL	2.01	92.04	79.66
------------	-----------	------	-------	-------

TABLA 18. Resultados, comparación del rendimiento de la extracción

## CAPITULO 11

### 11. CONCLUSIONES.-

- Las curvas de calibración de los patrones CIPERMETRINA, CLORPIRIFOS, SULFOTEP. Preparados con la relación de volúmenes, son lineales y obedecen a una función de recta. Con un coeficiente de correlación  $R^2 = 0,9864; 0,997; 0,9947$  respectivamente.
- Entonces según la **TABLA 18** podemos concluir que.
- Por medio de la **EXTRACCIÓN B** (sobres QuEChERS Agilent Technologies.) y **EXTRACCIÓN C** (sales de SupelQuE: citrate/sodiumbicarbonato 55237-U) Se puede obtener un rendimiento del 88.23 % favorable para la CIPERMETRINA. También se observa que con la sal de lavado Z-Sep/C18 la cipermetrina no puede recuperarse.
- Por medio de la **EXTRACCIÓN D** (sales de SupelQuE: citrate/sodiumbicarbonato 55237-U) con el lavado Z-Sep/C18 se puede obtener un rendimiento 102.8 % favorable para la CLORPIRIFOS. Este valor se debe a que existe un leve acoplamiento en el área de integración con una molécula de la matriz. Además que el clorpirifos es muy inmiscible con el agua.
- Por medio de la **EXTRACCIÓN C** (sales de SupelQuE: citrate/sodiumbicarbonato 55237-U) lavado con Z-Sep se puede obtener un rendimiento 92.04 % favorable para la SULFOTEP.
- Los tiempos de retención para las MOLÉCULAS CIPERMETRINA, CLORPIRIFOS Y SULFOTEP. Según la columna capilar de sílice fundida y la entrada del gas acarreador (Helio) fueron CLORPIRIFOS 9.816 (Min), CIPERMETRINA 17.65 (Min), SULFOTEP 8.254 (Min).

## **CAPITULO 12**

### **12. COMENTARIOS Y OBSERVACIONES.-**

En estos años el uso de QuEChERS para la limpieza de muestras se ha aplicado con éxito a otros alimentos. Así el rango de compuestos analizados por esta técnica se ha ampliado a otros tipos de compuestos desde pesticidas a otros contaminantes (Ej. Drogas veterinarias). Todos estos análisis se llevan a cabo por métodos en equipos LC-MS.

Las fases de SPE que se han usado hasta ahora como sales de lavado en el método QuEChERS son: amina primaria-secundaria (PSA) para la eliminación de ácidos, pigmentos polares y azúcares; Carbón grafito para la eliminación de pigmentos de color como la clorofila; y C18 para la eliminación de lípidos y componentes no polares.

SupelQuE Z-Sep/C18 y Z-Sep+ combinan la química del C18 y la silica recubierta de Zirconio para la eliminación de interferencias hidrofóbicas en muestras.

SupelQuE Z-Sep/C18 Z-Sep+ eliminan de forma efectiva más grasa y color de las muestras que las tradicionales fases tipo QuEChERS para métodos LC-MS, y pueden reemplazar a las fases C18 y PSA

Al momento de analizar trazas se debe tener en cuenta todas las condiciones de operación desde almacenamiento de la muestra, limpieza, ambientes y material, equipos calibrados, ya que según las condiciones de análisis se presentaran los resultados de una forma repetible.

Es necesario seguir protocolos establecidos y sujetarse a tales,

## CAPITULO 13

### REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Martínez-Vidal, J. L.; Arrebola-Liébanas, F. J.; González-Rodríguez, M.J.; Garrido-Frenich, A.; Fernández-Moreno, J. L. 2006. "Validation of a gas chromatography/triple quadrupole mass spectrometry based method for the quantification of pesticides in food commodities". *Rapid Communication Mass Spectrometry*. 20, 365–375.
2. Mezcua, M.; Ferrer, C.; García-Reyes, J. F.; Martínez-Bueno, M. J.; Sigrist, M.; Fernández-Alba, A. R. 2009. "Analyses of selected non-authorized insecticides in peppers by gas chromatography/mass spectrometry and gas chromatography/tandem mass spectrometry". *Food Chemistry*. 112, 221-225.
3. Mocholí, F. 2001. "Nuevas tendencias en el análisis de multiresiduos de plaguicidas en vegetales mediante GC/MS y GC/MS/MS". *Phytoma España: La revista profesional de sanidad vegetal*. 129, 33-35.
4. La técnica Z-Sep;Z-Sep/C18 emplea "Quick Easy Cheap Effective Rugged Safe" metodología asociada al QuEChERS. [www.sigmaaldrich/quechers](http://www.sigmaaldrich/quechers)
5. Pardío, V. T.; Waliszewski, K. N.; Landín, L. A.; Bautista, R. G. 2003. "Organochlorine pesticide residues in cow's milk from a tropical region of Mexico". *Food Additives and Contaminants*. 20, 3, 259-269.
6. Pérez, M. A.; Segura, A.; García, R.; Colinas, T.; Pérez, M.; Vázquez, A.; Navarro, H. 2009. "Residuos de plaguicidas organofosforados en cabezuela de brócoli (brassicaoleracea) determinados por cromatografía de gases". *Revista InAldana-Madrid*, M. L.; Valdez-Hurtado, S.; Vargas-Valdez, N. D.; Salazar-Lopez, N. J.; Silveira-Gramont, M. I.; Loarca-Piña, F. G.; Rodríguez-Olibarria, G.; Wong-Corral, F. J.; Borboa-Flores, J.; Burgos-Hernández, A. 2008. "Insecticide residues in stored grains in Sonora, Mexico: quantification and toxicity testing". *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. 80, 2, 93-96
7. CRAFS, A.S. *The Chemistry and Mode of Action of Herbicides*. New York, John Wiley & Sons, 1961. Compañía Editorial Continental, S.A. de C.V., México. METCALF, R. L., *Organic Insecticides*. New York, John Wiley & Sons, 1955. Compañía Editorial Continental, S.A. de C.V., México.
8. KLIMMER, O.R., *Plaguicidas. Toxicología, sintomatología y terapia*. Barcelona,

9. Ed. Oikos-Tau. 1968. J.M. Casas, J. García, J.M. Guadayol, J. Olivé. Anàlisi instrumental 2: Cromatografia i electroforesi. Edicions UPC, Barcelona, 250p. (1994).
10. M. López-Mesas. Tesis doctoral. Universitat Politècnica de Catalunya (UPC), Terrassa (2002).
11. L. Esteban. La Espectrometría de masas en imágenes. ACK editores, Madrid, 261 p. (1993).
12. NIOSH. Guía de Bolsillo del NIOSH sobre Peligros Químicos. Departamento de Salud y Servicios Humanos, Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades. Instituto Nacional para la Seguridad y Salud Ocupacional. DHHS (NIOSH) No. 2010-168 (2010). Disponible a partir de: <http://www.cdc.gov/niosh/npg>
13. Sigma-Aldrich Corp; Hoja de datos de seguridad para Chlorpyrifos (número de producto: 45395) versión 5.3 (27 de junio de 2014). Disponible a partir de, al 18 de junio de 2014: <http://www.sigmaaldrich.com/safety-center.html>
14. Las sustancias peligrosas Information System (HSIS) en el Work Australia segura es un servicio de asesoramiento de Internet que permite buscar información sobre las sustancias que se han clasificado por una fuente autorizada (como la Comisión Europea o NICNAS) de acuerdo con los criterios aprobados para La clasificación de las sustancias peligrosas [NOHSC: 1008 (2004) 3rd Edition.
15. EPA Oficina de Programas de Pesticidas. La EPA OPP Base de Datos de Pesticidas ecotoxicidad, actualizado por la Dirección de Destino y efectos ecológicos de la EPA Oficina de Programas de Pesticidas, contiene todos los puntos finales de ecotoxicidad EPA revisados para plaguicidas registrados o previamente registrados en los datos de Estados Unidos de toxicidad. <http://www.ipmcenters.org/Ecotox/index.cfm>

## ANEXO A

### Niveles de tolerancia de cipermetrina en alimentos

Pesticida	cipermetrina
Duraznos	EPA nivel de tolerancia: 1 ppm
Jugo de uva	EPA nivel de tolerancia: 2 ppm
Las habas verdes, congelado	EPA nivel de tolerancia: 0,5 ppm
nectarinas	EPA nivel de tolerancia: 1 ppm
Avena	EPA nivel de tolerancia: 3,0 ppm
arroz	EPA nivel de tolerancia: 1.50 ppm
Calabaza de verano	EPA nivel de tolerancia: 0,2 ppm
Fresas	EPA nivel de tolerancia: 0,8 ppm
Tomates	EPA nivel de tolerancia: 0,2 ppm
Sandía	EPA nivel de tolerancia: 0,2 ppm
Judías verdes	EPA nivel de tolerancia: 0,5 ppm
Los preparados para lactantes, a base de soja	EPA nivel de tolerancia: 0,05 ppm
Brócoli	EPA nivel de tolerancia: 2,0 ppm
Las habas verdes, en lata	EPA nivel de tolerancia: 0,5 ppm
Plátanos	EPA nivel de tolerancia: 0,05 ppm (alimentos / piensos Tolerancia a menos COV)
Los arándanos, Helado	EPA nivel de tolerancia: 0,8 ppm
Maíz dulce, fresco	EPA nivel de tolerancia: 0,05 ppm
Apio	EPA nivel de tolerancia: 10,00 ppm
Manzanas	EPA nivel de tolerancia: 2 ppm
Zanahorias	EPA nivel de tolerancia: 0,1 ppm
El maíz dulce, congelada	EPA nivel de tolerancia: 0,05 ppm
Cerezas, Helado	EPA nivel de tolerancia: 1 ppm
Fórmula infantil, productos lácteos	EPA nivel de tolerancia: 0,10 ppm

Cerezas	EPA nivel de tolerancia: 1 ppm
Los arándanos, Cultivado	EPA nivel de tolerancia: 0,8 ppm

. Fuente: U. Bracco, Nestlé Research Centre

## ANEXO C

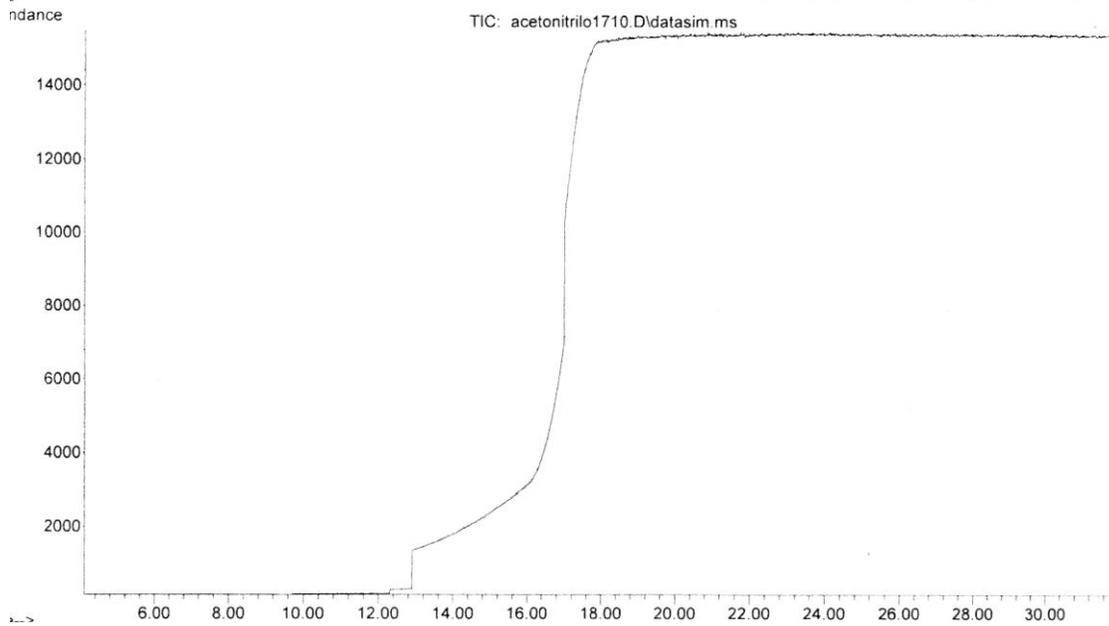
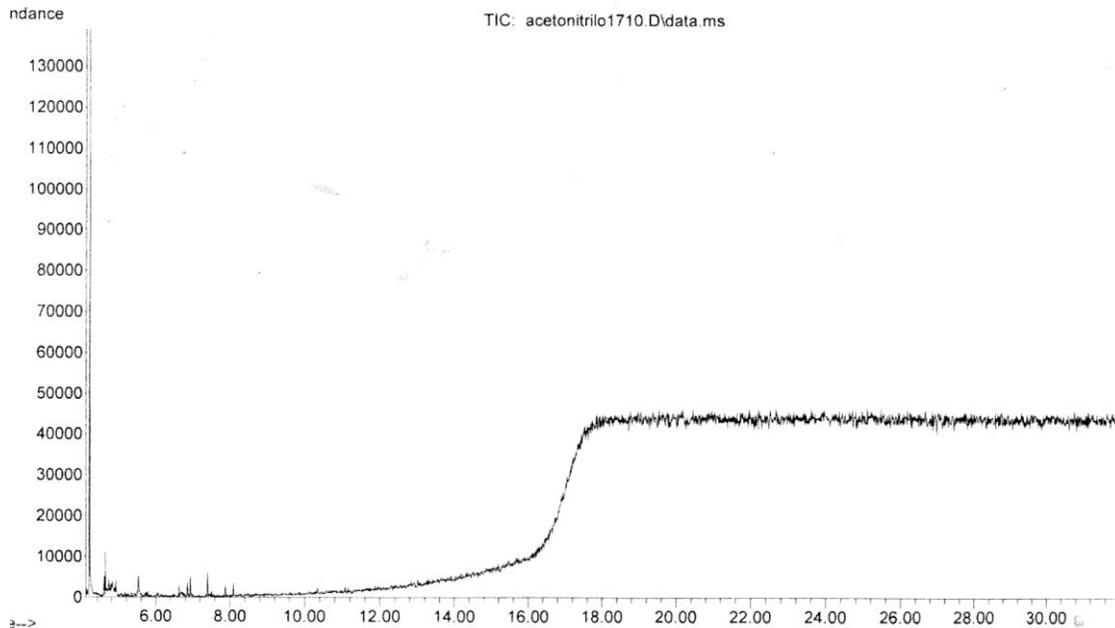
### CROMATOGRAMA PARA EL SOLVENTE ACETONITRILO

1<sup>ro</sup> en SCAN

2<sup>do</sup> en SIM



uired : 17 Oct 2016 13:12 using AcqMethod quechers 4 min.M  
ple Name: acetoneitrilo1710  
c Info :

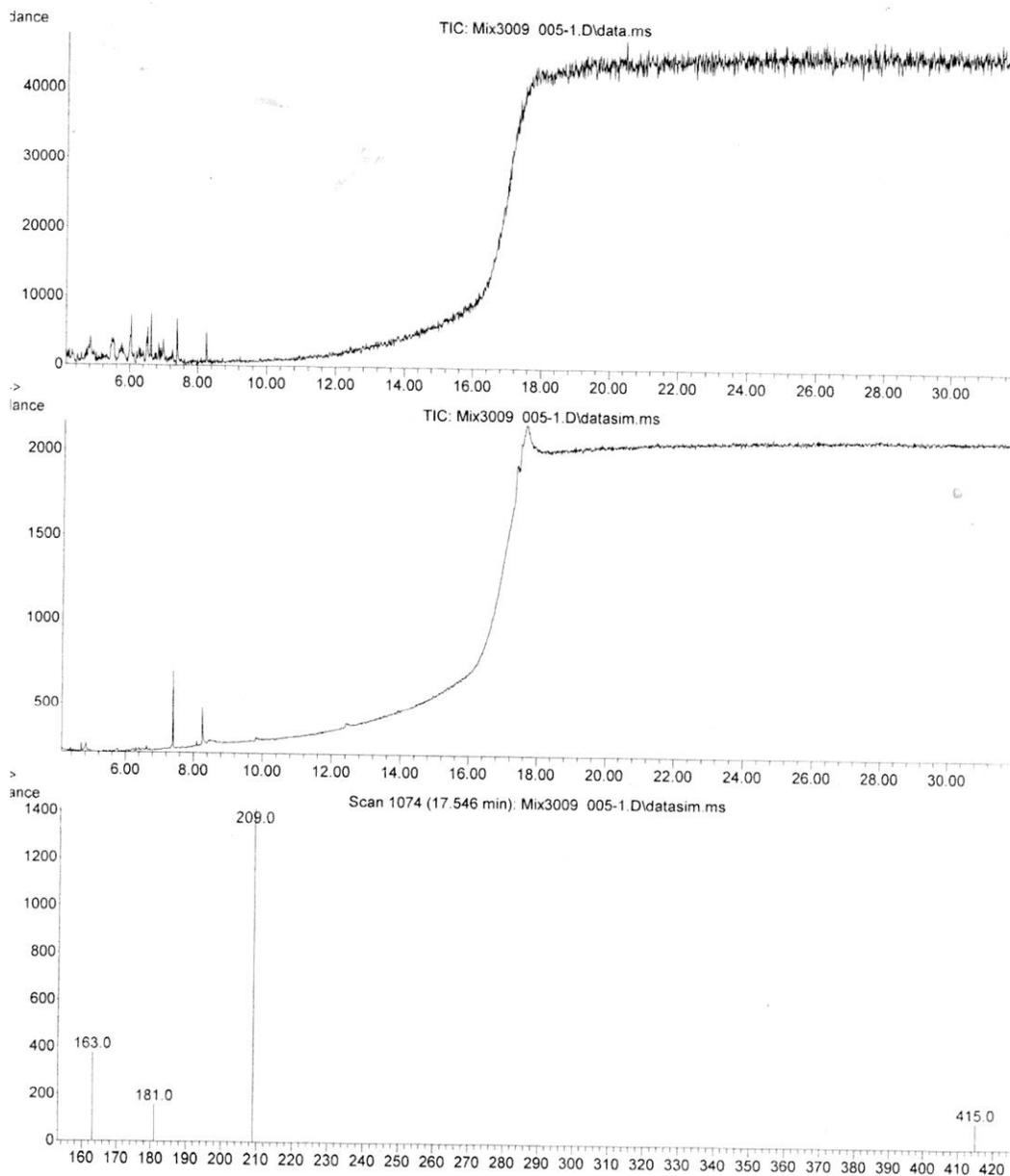


## ANEXO C-1

### CROMATOGRAMA PARA LAS CURVAS DE CALIBRACION 0.05 µg/ml MIX DE PESTICIDAS.

1<sup>ro</sup> en SCAN

2<sup>do</sup> en SIM  
3<sup>RO</sup> CIPERMETRINA ESPECTRO DE MASAS



**ANEXO D**

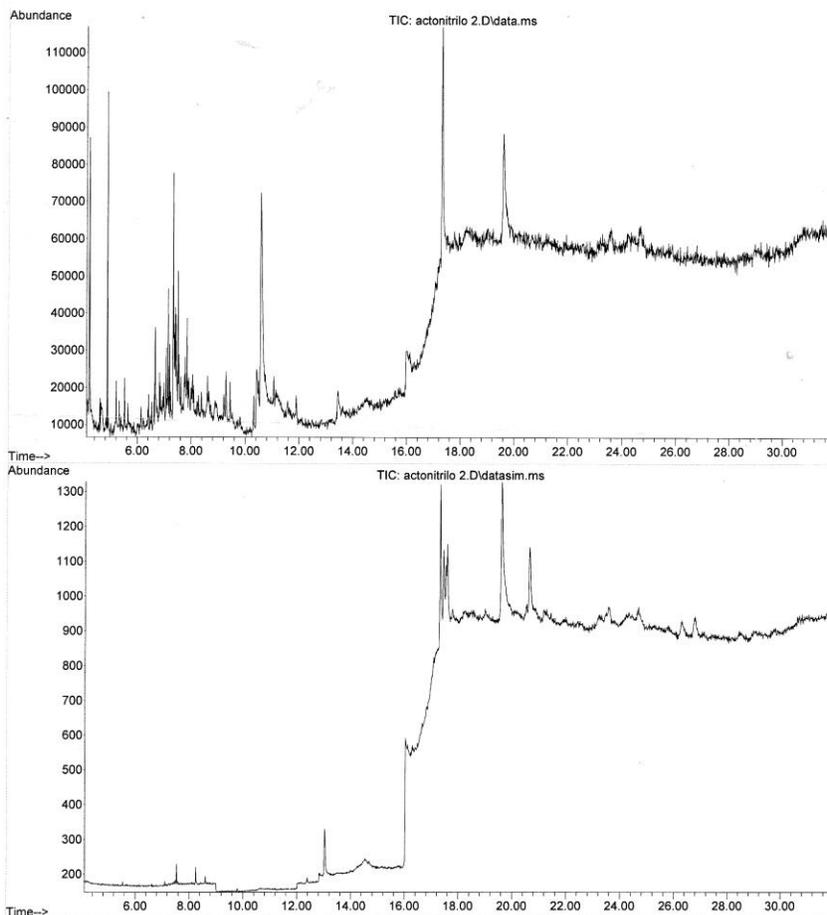
**CROMATOGRAMA MUESTRA DE QUINUA LAVADO CON SALES AGILENT  
QUECHERS.**

1<sup>ro</sup> en SCAN

2<sup>do</sup> en SIM

BLANK RUN

File :D:\MassHunter\GCMS\1\data\CURVA DE CALIBRACION\M291016\acton  
...  
itriilo 2.D  
Operator : Roxana  
Acquired : 30 Oct 2016 17:05 using AcqMethod quechers 4 min SIMMM.M  
Sample Name: actonitrilo 2  
Misc Info :

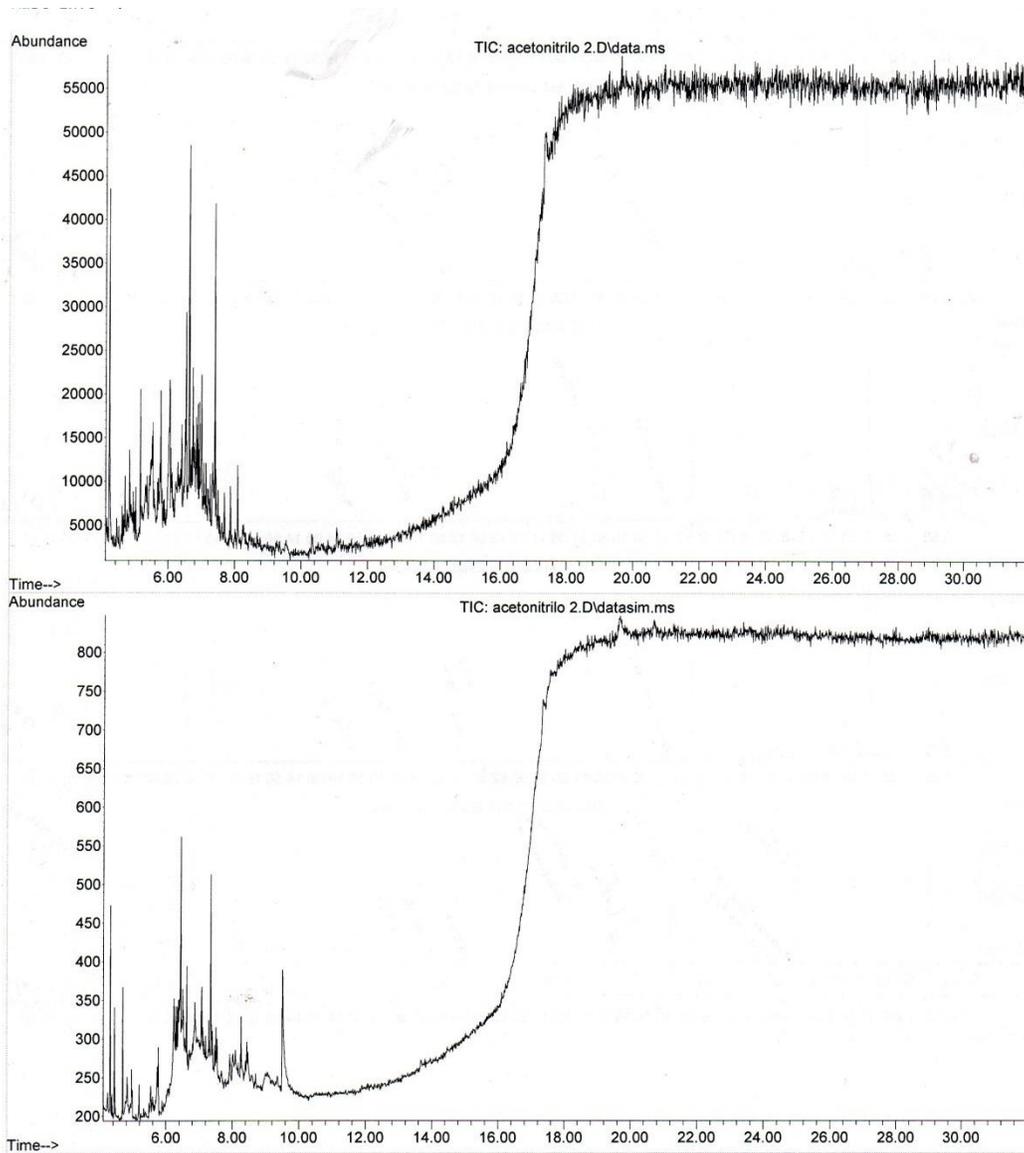


## ANEXO D-2

### CROMATOGRAMA PARA LA MUESTRA

1<sup>ro</sup> en SCAN sales pesadas

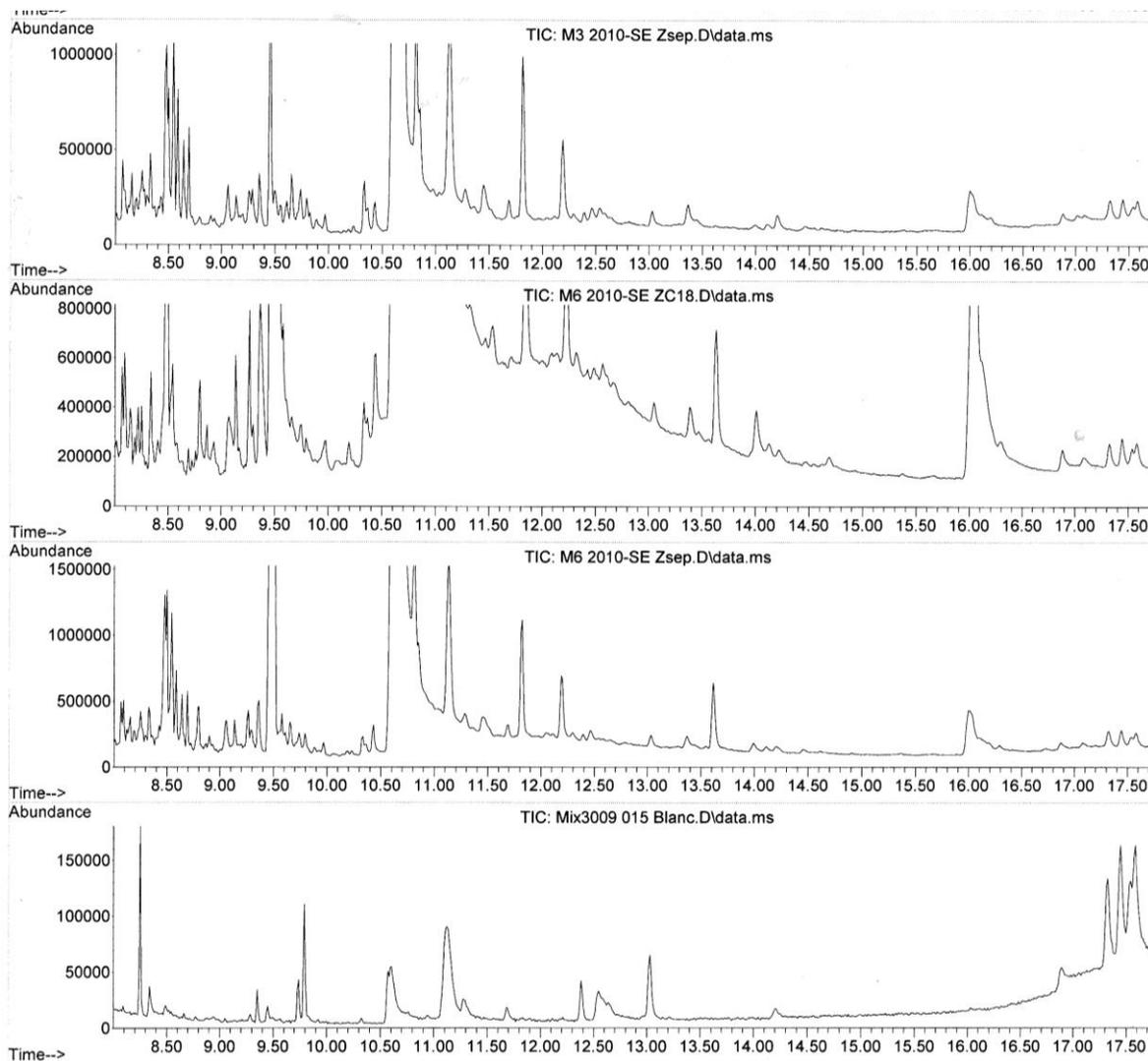
2<sup>do</sup> en SCAN del kit supelco Zsep/C18



### ANEXO D-3

## CROMATOGRAMA PARA EL SOLVENTE ACETONITRILO

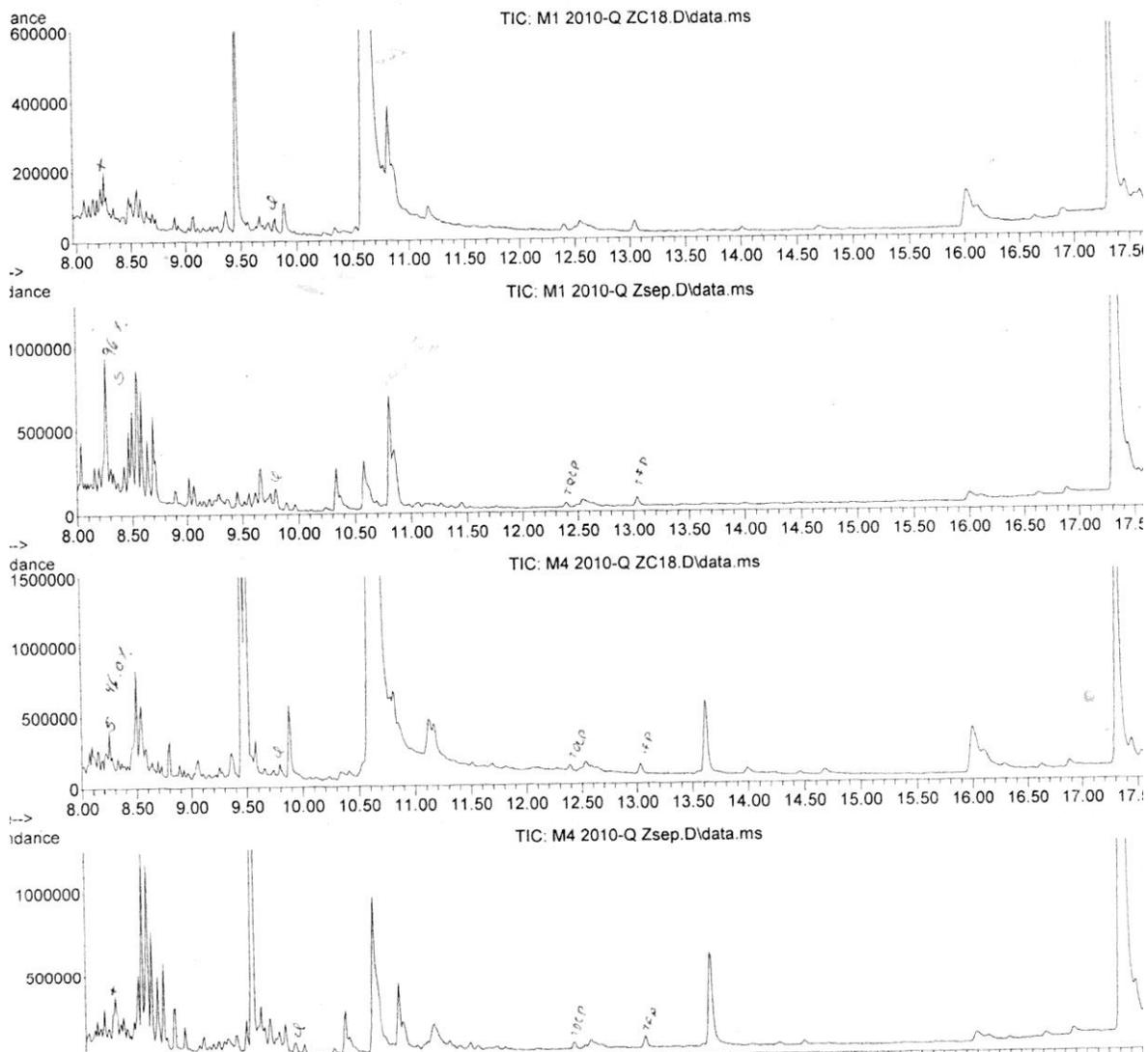
- 1<sup>ro</sup> SCAN BARRIDO EXTRACCION A
- 2<sup>do</sup> SCAN BARRIDO EXTRACCION B
- 3<sup>ro</sup> SCAN BARRIDO EXTRACCION C
- 4<sup>to</sup> SCAN BARRIDO EXTRACCION D



## ANEXO D-4

### CROMATOGRAMA PARA LA MUESTRA

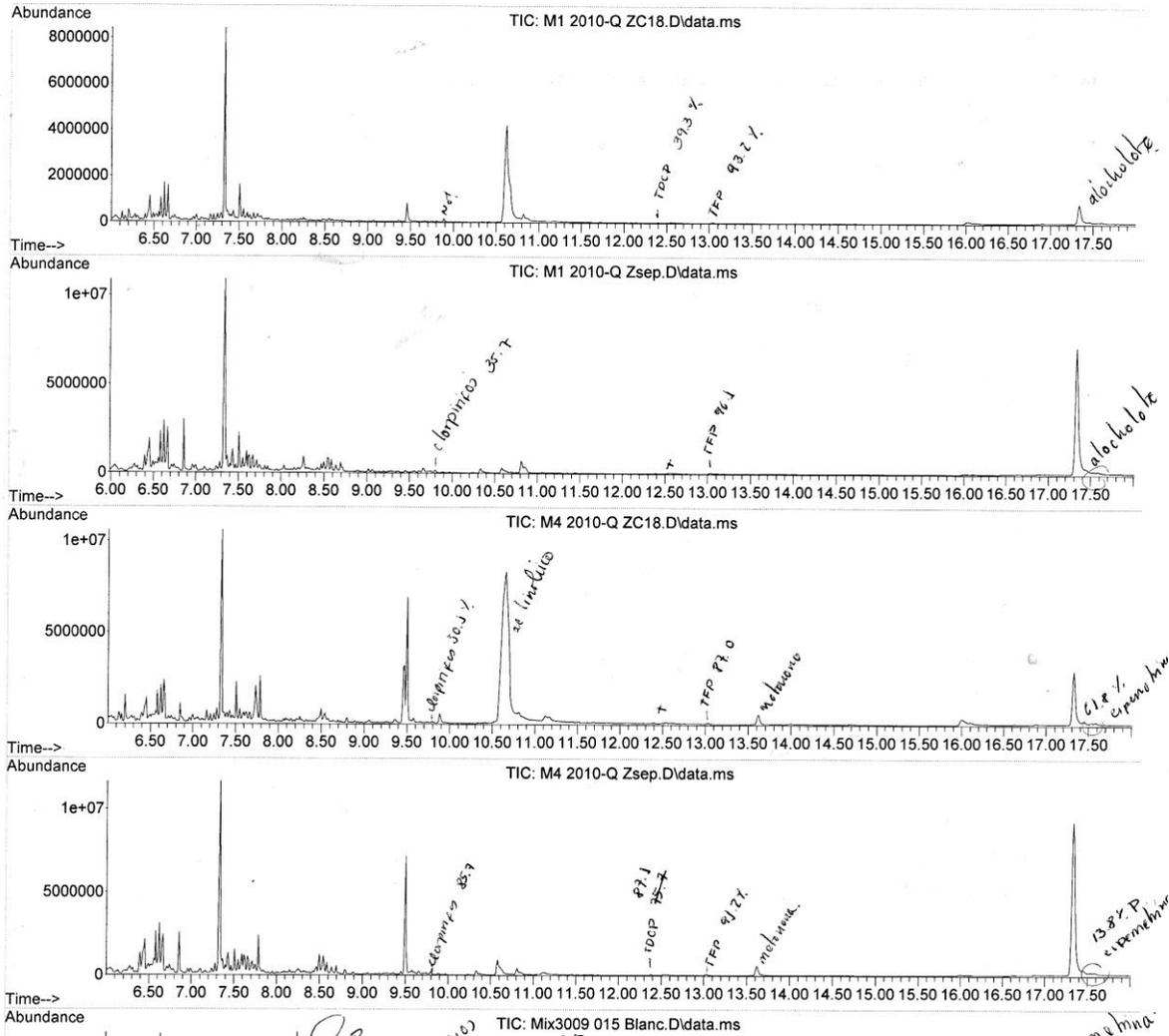
1<sup>ro</sup> SIM barrido EXTRACCION A  
2<sup>do</sup> SIM barrido EXTRACCION B  
3<sup>ro</sup> SIM barrido EXTRACCION C  
4<sup>to</sup> SIM barrido EXTRACCION D



#### ANEXO D-4

#### CROMATOGRAMA PARA LA MUESTRA

- 1<sup>ro</sup>SIM barrido EXTRACCION D
- 2<sup>do</sup>SIM barrido EXTRACCION C
- 3<sup>ro</sup>SIM barrido EXTRACCION A
- 4<sup>to</sup>SIM barrido EXTRACCION B



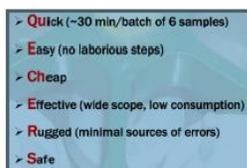
## ANEXO D

### Datos de las sales de lavado SUPELCO

## ¿Que son Supel™ QuE Z-Sep/C18 y Z-Sep+?

Repaso del metodo: Lo que conocemos...

### Supel QuE ( Dispersive SPE, dSPE, QuEChERS)



- Usamos sorbentes SPE en bulk
- Desarrollado para analisis de pesticidas, en multiresiduos (100)
- Diseñado para **eliminar interferencias** en muestras de alimentos
- Analitos quedan sin retener

Diferentes metodos dSPE:

- EU Standard Method EN – 15662
- AOAC Method 2007.01
- Metodo original(extracción sin tampon)

## DATOS DE LAS SALES DE EXTRACION QUECHERS KIT AGILEN

### QuEChERS Extraction Kits

Method	Buffered	Contents	Ceramic Homogenizers	With Tubes	Packets Only	
					50 / pk	200/ pk
AOAC 2007.01	Yes	6 g MgSO <sub>4</sub> ; 1.5 g NaAcetate	Yes	5982-5755CH		
			No	5982-5755	5982-6755	5982-7755
Original (10 g samples)	No	4 g MgSO <sub>4</sub> ; 1 g NaCl	Yes	5982-5550CH		
			No	5982-5550	5982-6550	5982-7550
Original (15 g samples)	No	6 g MgSO <sub>4</sub> ; 1.5 g NaCl	Yes	5982-5555CH		
			No	5982-5555	5982-6555	5982-7555
EN 15662	Yes	4 g MgSO <sub>4</sub> ; 1 g NaCl; 1 g NaCitrate; 0.5 g disodium citrate sesquihydrate	Yes	5982-5650CH		
			No	5982-5650	5982-6650	5982-7650
Acrylamides*	No	4 g MgSO <sub>4</sub> ; 0.5 g NaCl	No	5982-5850		

\*Katerina Mastovakova and Steven J. Lehotay have done work to extend the scope of QuEChERS beyond fruits and vegetables(1), using it to extract acrylamides in potato chips and other fried foods.

1: "Rapid Sample Preparation Method for LC-MS/MS or GC-MS Analysis of Acrylamides in Various Food Matrices", J. Agric. Food Chem, 2006, 54, 7001-7008.



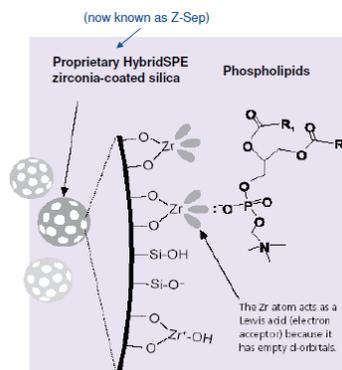
For more information on QuEChERS, view the video at [www.agilent.com/chem/QuEChERSvideo](http://www.agilent.com/chem/QuEChERSvideo)

## ANEXO D-1

La forma como actuan las resinas de las sales:

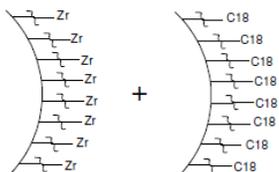
## ¿Que son Supel QuE Z-Sep/C18 and Z-Sep+?

¿Que ocurre cuando?



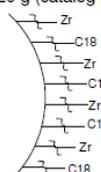
### Supel QuE Z-Sep/C18

- 50 mg de Discovery DSC-18 y 20 mg de Z-Sep (HybridSPE, Silica recubierta de zirconio)
- Envases de 2 mL en tubos de centrifuga; 100 tubos/pack (catalog # 55284-U)

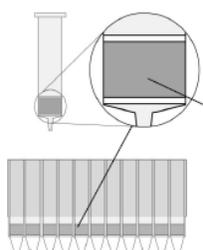


### Supel QuE Z-Sep+

- Doble enlace C-18 y Z-Sep
- Envase de 2 mL tubo de centrifuga, 500 mg;
  - 50 tubos/pack (catalog # 55296-U)
  - Muestras 5 tubos/pack (catalog # 55297-U)
  - Bulk, 20 g (catalog # 55299-U)



### HybridSPE®-Phospholipid



- El átomo de Zirconio actúa como un ácido de Lewis
- Los grupos fosfato en los fosfolípidos actúan como una base fuerte de Lewis y se unen fuertemente con los átomos de Zirconio.
- Los analitos se eluyen libres de fosfolípidos

