



Universidad Nacional Mayor de San Marcos

Universidad del Perú. Decana de América

Dirección General de Estudios de Posgrado
Facultad de Química e Ingeniería Química
Unidad de Posgrado

**Validación y análisis de carbamatos como Aldicarb,
Carbofurano y sus metabolitos en muestras de suelos
por cromatografía líquida acoplado a un
espectrómetro de masas**

TESIS

Para optar el Grado Académico de Magíster en Química con
mención en Química Analítica

AUTOR

Luis Eduardo GÓMEZ GUERRERO

ASESOR

Dra. Gloria Alejandrina COSCO SALGUERO

Lima, Perú

2024



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

Referencia bibliográfica

Gómez, L. (2024). *Validación y análisis de carbamatos como Aldicarb, Carbofurano y sus metabolitos en muestras de suelos por cromatografía líquida acoplado a un espectrómetro de masas*. [Tesis de maestría, Universidad Nacional Mayor de San Marcos Facultad de Química e Ingeniería Química, Unidad de Posgrado]. Repositorio institucional Cybertesis UNMSM.

Metadatos complementarios: autor/asesor

Datos de autor	
Nombres y apellidos	Luis Eduardo Gómez Guerrero
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	70438121
URL de ORCID	https://orcid.org/0009-0001-9192-2945
Datos de asesor	
Nombres y apellidos	Gloria Alejandrina Cosco Salguero
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	10156613
URL de ORCID	https://orcid.org/0000-0001-7699-9023
Datos del jurado	
Presidente del jurado	
Nombres y apellidos	Edgar Orlando Nagles Vidal
Tipo de documento	Carné de extranjería emitido en Perú
Número de documento de identidad	CO / 000731661
Miembro del jurado 1	
Nombres y apellidos	Holger Jelimer Maldonado García
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	10493709
Miembro del jurado 2	
Nombres y apellidos	Marcos Antonio Loroño González
Tipo de documento	Carné de extranjería emitido en Perú
Número de documento de identidad	VE / 003595107
Miembro del jurado 3	
Nombres y apellidos	Héctor Luis Gómez Ramírez
Tipo de documento	DNI

Número de documento de identidad	06125534
Datos de investigación	
Línea de investigación	C.0.2.5. Contaminación del ambiente
Grupo de investigación	Química Analítica aplicada a Medio Ambiente y Alimentos- QAMALI
Agencia de financiamiento	Laboratorio del Grupo de investigación QAMALI-FQIQ (Parcial)
Ubicación geográfica de la investigación	País: Perú Departamento: Piura Provincia: Piura Distrito: Chulucanas Latitud: -5.09745 Longitud: -80.18352 Departamento: Ica Provincia: Ica Distrito: Guadalupe Latitud: -13.98762 Longitud: -75.77212 Departamento: Junín Provincia: Huancayo Latitud: -12.07100 Longitud: -75.22150 Departamento: Lima Provincia: Lima Distrito: Cercado de Lima Latitud: -12.04806 Longitud: -77.06527
Año o rango de años en que se realizó la investigación	Agosto 2018 - Diciembre 2022
URL de disciplinas OCDE	Química Analítica https://purl.org/pe-repo/ocde/ford#1.04.07 Ciencia del Suelo https://purl.org/pe-repo/ocde/ford#4.01.04



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

Universidad del Perú. Decana de América

FACULTAD DE QUÍMICA E INGENIERÍA QUÍMICA

VICEDECANATO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

UNIDAD DE POSGRADO

“Año del Bicentenario, de la consolidación de nuestra Independencia, y de la conmemoración de las heroicas batallas de Junín y Ayacucho”

UNIDAD DE POSGRADO

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS PRESENCIAL

GRADO ACADÉMICO DE MAGÍSTER

A los quince días del mes de enero del año dos mil veinticuatro, a las 11:00 horas en el auditorio Gastón Pons Muzzo de la Facultad de Química e Ingeniería Química, se reunió el Jurado de Tesis presidido por el Dr. Edgar Orlando Nagles Vidal, el Prof. Marcos Antonio Loroño González., PhD, el Mg. Héctor Luis Gómez Ramírez, el Mg. Holger Jelimer Maldonado García y la Dra. Gloria Alejandrina Cosco Salguero, para calificar la sustentación de la tesis titulada: **“VALIDACIÓN Y ANÁLISIS DE CARBAMATOS COMO ALDICARB, CARBOFURANO Y SUS METABOLITOS EN MUESTRAS DE SUELOS POR CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA ACOPLADO A UN ESPECTRÓMETRO DE MASAS”**, presentado por el bachiller Luis Eduardo Gómez Guerrero, para optar el Grado Académico de Magíster en Química con mención en Química Analítica.

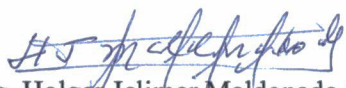
Realizada la sustentación de tesis de acuerdo al Art. 61 del Reglamento General de Estudios de Posgrado, aprobado con R.R. N° 00301-R-09 del 22 de enero del 2009 y conforme a lo dispuesto en la RR. N° 002995-2021-R/UNMSM con fecha 01 de abril de 2021 el jurado acordó la siguiente calificación:


18 (muy Bueno)

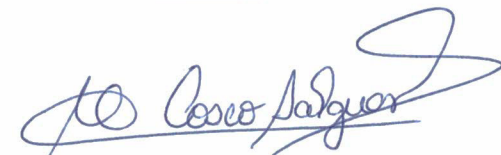
Habiendo sido aprobada la sustentación de la tesis, el Jurado recomendó que la Facultad proponga que se le otorgue el Grado Académico de Magíster en Química con mención en Química Analítica, al **bachiller Luis Eduardo Gómez Guerrero**.


El acto académico de sustentación concluyó a las:


horas.


Mg. Holger Jelimer Maldonado García
Miembro


Mg. Héctor Luis Gómez Ramírez
Miembro


Dra. Gloria Alejandrina Cosco Salguero
Asesora


Prof. Marcos Antonio Loroño González., PhD
Miembro


Dr. Edgar Orlando Nagles Vidal
Presidente



CERTIFICADO DE SIMILITUD

Yo Dra. Gloria A. Cosco Salguero. en mi condición de asesora acreditada con Dictamen N°07-VDIP-FQIQ-2019 del manuscrito de tesis final de Investigación, titulado:

VALIDACIÓN Y ANÁLISIS DE CARBAMATOS COMO ALDICARB, CARBOFURANO Y SUS METABOLITOS EN MUESTRAS DE SUELOS POR CROMATOGRFÍA LÍQUIDA ACOPLADO A UN ESPECTRÓMETRO DE MASAS,

presentado por el bachiller Luis Eduardo Gómez Guerrero,

para ser publicado en el Repositorio de Tesis Digitales Cybertesis

CERTIFICO que se ha cumplido con lo establecido en la Directiva de Originalidad y de Similitud de Trabajos Académicos, de Investigación y Producción Intelectual. Según la revisión, evaluación y análisis mediante el software para la detección de similitud textual, el documento evaluado cuenta con el porcentaje de 9% de similitud, nivel **PERMITIDO**, para continuar con los trámites correspondientes y para su **publicación**.

Se emite el presente certificado con fines de continuar con los trámites respectivos para su publicación.

Firma de la asesora

DNI:

10156613

Nombres y apellidos de la asesora:

Dra. Gloria A. Cosco Salguero



A Dios nuestro Señor, a nuestro Señor Jesucristo quien dio su vida para la salvación de la nuestra, a mis amados padres, Ruth Guerrero Jara y Luis Enrique Gómez Alfaro, por su amor y apoyo incondicional y a mi pequeño hijo Fabián quien desde que llegó al mundo, llenó de luz y alegría toda mi vida, y es mi fuente de ímpetu para seguir avanzando y ser mejor cada día.

ÍNDICE GENERAL

CAPÍTULO 1: INTRODUCCIÓN	1
1.1 Situación Problemática	1
1.2 Formulación del problema	1
1.3 Justificación Teórica.....	2
1.4 Justificación Práctica.....	2
1.5 Objetivos	3
CAPÍTULO 2: MARCO TEÓRICO	4
2.1 Marco Filosófico o epistemológico de la investigación.....	4
2.1.2 Los carbamatos en el Perú.....	14
2.2 Antecedente de investigación.....	16
2.3 Bases Teóricas.....	24
CAPÍTULO 3: METODOLOGÍA.....	50
3.1 Solución a los problemas formulados	50
3.1.1 Diseño del experimento.....	50
3.1.2 Tratamiento estadístico de los datos obtenidos	59
3.1.3 Influencia del efecto matriz en los resultados	139
CAPÍTULO 4: RESULTADOS Y DISCUSIÓN	140
4.1 Análisis e interpretación de resultados.....	140
4.1.1 Parámetros de Validación del método.....	140
4.1.2 Análisis de Carbamatos en suelos de las ciudades de Piura, Ica y Huancayo	147
4.2 Prueba de Hipótesis.....	169
4.2.1 Hipótesis	169
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	170
ANEXOS	180

LISTA DE CUADROS

Tabla 1 Métodos de extracción de carbamatos	18
Tabla 2 Métodos cromatográficos de cuantificación de carbamatos	22
Tabla 3 Variación de porcentaje de mezcla de las fases móviles A y B con flujo de 0.4 mL/min.....	52
Tabla 4 <i>Plan de validación del método</i>	60
tabla 5. Medición del área del pico de Aldicarb a diferentes concentraciones día 1	61
tabla 6 Medición del área del pico de Aldicarb a diferentes concentraciones día 2	62
tabla 7 Medición del área del pico de Aldicarb a diferentes concentraciones día 3	63
tabla 8 Medición del área del pico de Aldicarb Sulfona a diferentes concentraciones día 1	64
tabla 9 Medición del área del pico de Aldicarb Sulfona a diferentes concentraciones día 2	65
tabla 10 Medición del área del pico de Aldicarb Sulfona a diferentes concentraciones día 3.....	66
tabla 11 Medición del área del pico de Aldicarb Sulfoxido a diferentes concentraciones día 1	67
tabla 12 Medición del área del pico de Aldicarb Sulfoxido a diferentes concentraciones día 2.....	68
tabla 13 Medición del área del pico de Aldicarb Sulfoxido a diferentes concentraciones día 3.....	69
tabla 14 Medición del área del pico de Carbofurano a diferentes concentraciones día 1	70
tabla 15 Medición del área del pico de Carbofurano a diferentes concentraciones día 2	71
tabla 16 Medición del área del pico de Carbofurano a diferentes concentraciones día 3	72
tabla 17 Medición del área del pico de Carbofurano-3-hidroxi a diferentes concentraciones día 1	73
tabla 18 Medición del área del pico de Carbofurano-3-hidroxi a diferentes concentraciones día 2	74
tabla 19 Medición del área del pico de Carbofurano-3-hidroxi a diferentes concentraciones día 3	75
tabla 20 Resultados de las muestras del suelo de lca fortificado s-i-ad para aldicarb a 100 ng/mL.....	77
tabla 21 p-value> 0,05 afirmando que las medias son iguales	80
tabla 22 Resultados de las muestras del suelo de lca fortificado s-i-ad para aldicarb Sulfona a 100 ng/mL.....	83
tabla 23 p-value > 0,05 afirmando que las medias son iguales	86
tabla 24 Resultados de las muestras del suelo de lca fortificado s-i-ad para aldicarb Sulfoxido a 100 ng/mL	89
tabla 25 p-value> 0,05 afirmando que las medias son iguales	92
tabla 26 Resultados de las muestras del suelo de lca fortificado s-i-ad para Carbofurano a 100 ng/mL	95
tabla 27 p-value> 0,05 afirmando que las medias son iguales	98
tabla 28 Resultados de las muestras fortificadas de lca s-i-ad para carbofurano-3-hidroxi a 100 ng/mL	101
tabla 29 p-value> 0,05 afirmando que las medias son iguales	104

Tabla 30 Datos de a (punto de corte entre la recta con el eje de las ordenadas) y b (pendiente) de las curvas de aldicarb en los 3 días	106
tabla 31 Datos de a (punto de corte entre la recta con el eje de las ordenadas) y b (pendiente) de las curvas de aldicarb Sulfona en los 3 días	106
tabla 32 Datos de a (punto de corte entre la recta con el eje de las ordenadas) y b (pendiente) de las curvas de aldicarb Sulfoxido en los 3 días	107
tabla 33 Datos de a (punto de corte entre la recta con el eje de las ordenadas) y b (pendiente) de las curvas de carbofurano en los 3 días	108
tabla 34 Datos de a (punto de corte entre la recta con el eje de las ordenadas) y b (pendiente) de las curvas de carbofurano-3-hidroxi en los 3 días	108
Tabla 35 Incertidumbres de la concentración $UC(\mu g/mL)$ Aldicarb.....	122
Tabla 36 Incertidumbres de la concentración $UC(\mu g/mL)$ Aldicarb Sulfona	122
Tabla 37 Incertidumbres de la concentración $UC(\mu g/mL)$ Aldicarb Sulfoxido.....	123
Tabla 38 Incertidumbres de la concentración $UC(\mu g/mL)$ Carbofurano	123
Tabla 39 Incertidumbres de la concentración $UC(\mu g/mL)$ Carbofurano-3-hidroxi	123
Tabla 40 Incertidumbres de los pesos de las muestras $UW_{muestra}$	125
Tabla 41 Incertidumbres combinadas de Aldicarb	126
Tabla 42 Incertidumbres combinadas de Aldicarb Sulfona	126
Tabla 43 Incertidumbres combinadas de Aldicarb Sulfoxido.....	126
Tabla 44 Incertidumbres combinadas de Carbofurano	127
Tabla 45 Incertidumbres combinadas de Carbofurano-3-hidroxi.....	127
Tabla 46 Concentraciones (mg/kg) de Aldicarb en suelos	128
Tabla 47 Concentraciones (mg/kg) de Aldicarb Sulfona en suelos.....	128
Tabla 48 Concentraciones (mg/kg) de Aldicarb Sulfoxido en suelos.....	129
Tabla 49 Concentraciones (mg/kg) de Carbofurano en suelos	129
Tabla 50 Concentraciones (mg/kg) de Carbofurano-3-Hidroxi en suelos	130
Tabla 51 Estimación de la Incertidumbre de Sesgo del Aldicarb.....	131
Tabla 52 Estimación de la Incertidumbre de Sesgo del Aldicarb Sulfona	131
Tabla 53 Estimación de la Incertidumbre de Sesgo del Aldicarb Sulfoxido	131
Tabla 54 Estimación de la Incertidumbre de Sesgo del Carbofurano	132
Tabla 55 Estimación de la Incertidumbre de Sesgo del Carbofurano-3-hidroxi	132
Tabla 56 Estimación de la Incertidumbre de Analista del Aldicarb.....	133
Tabla 57 Estimación de la Incertidumbre de Analista del Aldicarb Sulfona	133
Tabla 58 Estimación de la Incertidumbre de Analista del Aldicarb Sulfoxido	133
Tabla 59 Estimación de la Incertidumbre de Analista del Carbofurano	134
Tabla 60 Estimación de la Incertidumbre de Analista del Carbofurano-3-hidroxi	134
Tabla 61 Estimación de la Incertidumbre global del Aldicarb.....	135
Tabla 62 Estimación de la Incertidumbre global del Aldicarb Sulfona	135
Tabla 63 Estimación de la Incertidumbre global del Aldicarb Sulfoxido	135
Tabla 64 Estimación de la Incertidumbre global del Carbofurano	136
Tabla 65 Estimación de la Incertidumbre global del Carbofurano-3-hidroxi	136
Tabla 66 Estimación de la Incertidumbre global total del Aldicarb y sus metabolitos	136
Tabla 67 Factores de Conversión de los metabolitos del Aldicarb.....	137
Tabla 68 Estimación de la Incertidumbre global total del Carbofurano y su metabolito	137
Tabla 69 Factores de Conversión de los metabolitos del Carbofurano.....	138
Tabla 70 r^2 de todos los analitos en 3 días diferentes.....	140
Tabla 71 Pendiente de todos los analitos en 3 días diferentes.....	146
Tabla 72 Resultados obtenidos de la fortificación de suelo de Piura (código s-p-ad) con Aldicarb.....	150

Tabla 73 Porcentaje de Recuperación en Aldicarb en muestra de suelo de Piura	150
Tabla 74 Evaluación de la Precisión de datos por RSD de Horwitz.....	151
Tabla 75 Resultados obtenidos de la fortificación de suelo de Piura (código s-p-ad) con Aldicarb Sulfona	152
Tabla 76 Porcentaje de Recuperación en Aldicarb Sulfona en muestra de suelo de Piura	152
Tabla 77 Evaluación de la Precisión de datos por RSD de Horwitz.....	153
Tabla 78 Resultados obtenidos de la fortificación de suelo de Piura (código s-p-ad) con Aldicarb Sulfóxido	154
Tabla 79 Porcentaje de Recuperación en Aldicarb Sulfóxido en muestra de suelo de Piura	154
Tabla 80 Evaluación de la Precisión de datos por RSD de Horwitz.....	155
Tabla 81 Resultados obtenidos de la fortificación de suelo de Piura (código s-p-ad) con Carbofurano	156
Tabla 82 Porcentaje de Recuperación en Carbofurano en muestra de suelo de Piura	156
Tabla 83 Evaluación de la Precisión de datos por RSD de Horwitz.....	157
Tabla 84 Resultados obtenidos de la fortificación de suelo de Piura (código s-p-ad) con Carbofurano-3-hidroxi	158
Tabla 85 Porcentaje de Recuperación en Carbofurano-3-hidroxi en muestra de suelo de Piura.....	158
Tabla 86 Evaluación de la Precisión de datos por RSD de Horwitz.....	159
Tabla 87 Concentraciones de Carbofurano en mg/kg en muestra de suelo de Huancayo.....	161
Tabla 88 Evaluación de la Precisión de datos por RSD de Horwitz caso de Carbofurano en suelos de Huancayo	162
Tabla 89 Resultados obtenidos de la fortificación de suelo de Huancayo (código s-h-ad) con Carbofurano	162
Tabla 90 Concentraciones de Carbofurano-3-hidroxi en mg/kg en muestra de suelo de Huancayo.....	165
Tabla 91 Evaluación de la Precisión de datos por RSD de Horwitz caso de Carbofurano-3-hidroxi en suelos de Huancayo.....	165
Tabla 92 Resultados obtenidos de la fortificación de suelo de Huancayo (código s-h-ad) con Carbofurano-3-hidroxi	166

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Los carbamatos derivados del ácido carbámico	11
Figura 2	Metabolización del aldicarb.....	12
Figura 3	Metabolización del carbofurano	13
Figura 4	Los pesticidas y su contaminación en el medio ambiente.....	15
Figura 5	<i>Esquema del acoplamiento de la sonda ESI</i>	29
Figura 6	<i>Estructura de los iones moleculares de carbamatos (a) Carbofurano, (b) Aldicarb</i>	30
Figura 7	<i>Esquema de difusión de iones por la fuente ESI</i>	30
Figura 8	<i>Posiciones del gas de nebulización y Heating Gas, posición de la fuente eléctrica que genera el High Voltage Supply</i>	31
Figura 9	<i>Estructura de un cuadrupolo como filtro de los iones que serán leídos por el detector de masas</i>	33
Figura 10	Recorrido del ión a través del Espectrómetro Masas triple Cuadrupolo	35
Figura 11	<i>Formación del fragmento del aldicarb m/z: 116</i>	36
Figura 12	<i>Formación del fragmento del aldicarb m/z 89</i>	36
Figura 13	<i>Formación del fragmento del carbofurano m/z: 165.0</i>	37
Figura 14	<i>Formación del fragmento del carbofurano m/z: 122</i>	37
Figura 15	<i>Ejemplos de veracidad y precisión</i>	42
Figura 16	<i>Rango de trabajo, definido por su límite superior y su límite inferior (El cual podría ser el límite de cuantificación)</i>	45
Figura 17	<i>(a) SN: 10:1 requisito para el LC, (b) SN: 3:1 requisito para el LD</i>	47
Figura 18	Mezcla gradiente de las fases móviles A y B.....	51
Figura 19	Diagrama de Flujo de muestreo en suelos	55
Figura 20	Diagrama de flujo de la extracción de carbamatos de la muestra de suelos (1).....	56
Figura 21	Diagrama de flujo de la extracción de carbamatos de la muestra de suelos (2).....	57
Figura 22	Diagrama de flujo de la extracción de carbamatos de la muestra de suelos (3).....	58
Figura 23	<i>Curva de Calibración de Aldicarb día 1</i>	61
Figura 24	<i>Curva de Calibración de Aldicarb día 2</i>	62
Figura 25	<i>Curva de Calibración de Aldicarb día 3</i>	63
Figura 26	<i>Curva de Calibración de Aldicarb Sulfona día 1</i>	64
Figura 27	<i>Curva de Calibración de Aldicarb Sulfona día 2</i>	65
Figura 28	<i>Curva de Calibración de Aldicarb Sulfona día 3</i>	66
Figura 29	<i>Curva de Calibración de Aldicarb Sulfoxido día 1</i>	67
Figura 30	<i>Curva de Calibración de Aldicarb Sulfoxido día 2</i>	68
Figura 31	<i>Curva de Calibración de Aldicarb Sulfoxido día 3</i>	69
Figura 32	<i>Curva de Calibración de Carbofurano día 1</i>	70
Figura 33	<i>Curva de Calibración de Carbofurano día 2</i>	71
Figura 34	<i>Curva de Calibración de Carbofurano día 3</i>	72
Figura 35	<i>Curva de Calibración de Carbofurano-3-hidroxi día 1</i>	73
Figura 36	<i>Curva de Calibración de Carbofurano-3-hidroxi día 2</i>	74
Figura 37	<i>Curva de Calibración de Carbofurano-3-hidroxi día 3</i>	75
Figura 38	Cromatograma de la muestra s-i	76
Figura 39	<i>Cromatograma de la muestra s-i-ad (fortificada)</i>	76
Figura 40	<i>Resumen Grafico del día 1 Aldicarb</i>	78
Figura 41	<i>Resumen Grafico del día 2 Aldicarb</i>	78

Figura 42	Resumen Grafico del día 3 Aldicarb	79
Figura 43	Comparación de medias con ANOVA caso Aldicarb.....	80
Figura 44	Prueba de igualdad de varianzas caso Aldicarb	81
Figura 45	<i>Cromatograma de la muestra s-i (aldicarb sulfona)</i>	82
Figura 46	Cromatograma de la muestra s-i-ad (fortificada-aldicarb sulfona)	82
Figura 47	Resumen Grafico del día 1 Aldicarb Sulfona	84
Figura 48	Resumen Grafico del día 2 Aldicarb Sulfona	84
Figura 49	Resumen Grafico del día 3 Aldicarb Sulfona	85
Figura 50	Comparación de medias con ANOVA caso Aldicarb Sulfona	86
Figura 51	Prueba de igualdad de varianzas caso Aldicarb Sulfona	87
Figura 52	<i>Cromatograma de la muestra s-i (aldicarb sulfóxido)</i>	88
Figura 53	Cromatograma de la muestra s-i-ad (fortificada-aldicarb sulfóxido)	88
Figura 54	Resumen Grafico del día 1 Aldicarb Sulfóxido	90
Figura 55	Resumen Grafico del día 2 Aldicarb Sulfóxido	90
Figura 56	Resumen Grafico del día 3 Aldicarb Sulfóxido	91
Figura 57	Comparación de medias con ANOVA caso Aldicarb Sulfóxido	92
Figura 58	Prueba de igualdad de varianzas caso Aldicarb Sulfóxido.....	93
Figura 59	<i>Cromatograma de la muestra s-i (Carbofurano)</i>	94
Figura 60	Cromatograma de la muestra s-i-ad (fortificada-carbofurano).....	94
Figura 61	Resumen Grafico del día 1 Carbofurano	96
Figura 62	Resumen Grafico del día 2 Carbofurano	96
Figura 63	Resumen Grafico del día 3 Carbofurano	97
Figura 64	Comparación de medias con ANOVA caso Carbofurano	98
Figura 65	Prueba de igualdad de varianzas caso Carbofurano	99
Figura 66	Cromatograma de la muestra s-i (Carbofurano-3-hidroxi).....	100
Figura 67	Cromatograma de la muestra s-i-ad (fortificada-carbofurano-3-hidroxi)	100
Figura 68	Resumen Grafico del día 1 Carbofurano-3-hidroxi	102
Figura 69	Resumen Grafico del día 2 Carbofurano-3-hidroxi	102
Figura 70	Resumen Grafico del día 3 Carbofurano-3-hidroxi	103
Figura 71	Comparación de medias con ANOVA caso Carbofurano-3-hidroxi	104
Figura 72	Prueba de igualdad de varianzas caso Carbofurano-3-hidroxi.....	105
Figura 73	<i>Pico del LD de 1ng/mL</i>	109
Figura 74	Curva baja de Aldicarb desde el LD hasta el LC	110
Figura 75	<i>Pico del LD de 1ng/mL</i>	111
Figura 76	Curva baja de Aldicarb Sulfona desde el LD hasta el LC.....	112
Figura 77	<i>Pico del LD de 1ng/mL</i>	113
Figura 78	Curva baja de Aldicarb Sulfóxido desde el LD hasta el LC	114
Figura 79	<i>Pico del LD de 1ng/mL</i>	115
Figura 80	Curva baja de Carbofurano desde el LD hasta el LC.....	116
Figura 81	<i>Pico del LD de 1ng/mL</i>	117
Figura 82	Curva baja de Carbofurano-3-hidroxi desde el LD hasta el LC	118
Figura 83	Focalización de los iones por los electrodos del Ion Focus, seleccionando solo los iones de interés, desechando los componentes del efecto matriz.....	119
Figura 84	Diagrama de Ichikawa para la estimación de la Incertidumbre del resultado $C(mg/kg)$	121
Figura 85	Puntos de muestreo de suelos en diferentes partes del Perú	148
Figura 86	Cromatograma de Aldicarb en el suelo proveniente de la ciudad de Piura.	149
Figura 87	Cromatograma de Aldicarb en el suelo de Piura fortificado con 100 ng/mL.	149

Figura 88 Cromatograma de Aldicarb Sulfona en el suelo proveniente de la ciudad de Piura.....	151
Figura 89 Cromatograma de Aldicarb Sulfona en el suelo de Piura fortificado con 100ng/mL.....	152
Figura 90 Cromatograma de Aldicarb Sulfóxido en el suelo proveniente de la ciudad de Piura.....	153
Figura 91 Cromatograma de Aldicarb Sulfóxido en el suelo de Piura fortificado con 100ng/mL.....	154
Figura 92 Cromatograma de Carbofurano en el suelo proveniente de la ciudad de Piura.....	155
Figura 93 Cromatograma de Carbofurano en el suelo de Piura fortificado con 100 ng/mL.....	156
Figura 94 Cromatograma de Carbofurano-3-hidroxi en el suelo proveniente de la ciudad de Piura.....	157
Figura 95 Cromatograma de Carbofurano-3-hidroxi en el suelo de Piura fortificado con 100ng/mL.....	158
Figura 96 Cromatograma de Carbofurano en suelo de Huancayo (código s-h).....	160
Figura 97 Cromatograma de Carbofurano en suelo de Huancayo Duplicado (código s-h-d).....	160
Figura 98 Cromatograma de Carbofurano en el suelo de Huancayo fortificado con 100 ng/mL (código s-h-ad).....	162
Figura 99 Cromatograma de Carbofurano-3-hidroxi en suelo de Huancayo (código s-h).....	163
Figura 100 Cromatograma de Carbofurano-3-hidroxi en suelo de Huancayo Duplicado (código s-h-d).....	164
Figura 101 Cromatograma de Carbofurano-3-hidroxi en el suelo de Huancayo fortificado con 100ng/mL (código s-h-ad).....	166

RESUMEN

El presente trabajo de investigación propone condiciones cromatográficas en (UHPLC) acoplado a detector masas triple cuadrupolo (MS/MS) para la identificación y cuantificación de contaminantes orgánicos como los carbamatos, en diferentes muestras de suelos como punto de partida de contaminación al ambiente, este método garantiza una buena separación cromatográfica de los componentes de las muestras, las ionizaciones de las moléculas y la separación de sus fragmentos, los cuales serán identificados por su relación masa carga (m/z), y sus iones ratio, parámetros que ayudan a identificar a los analitos de interés y la determinación de concentraciones mucho más bajas en comparación a otros métodos de determinación de estos contaminantes orgánicos, de igual forma, con el método se tiene una buena recuperación en las muestras fortificadas y con mucho mayor precisión, también se estudiarán los parámetros exigidos por INACAL para la validación de dicho método, usando los cálculos estadísticos necesarios para este fin.

Palabras Clave

Cromatografía líquida de Alta Presión (UHPLC), detector masas, triple cuadrupolo (MS/MS), contaminantes orgánicos, iones, fragmentos, ion ratio, validación.

ABSTRACT

The present research work proposes chromatographic conditions in (UHPLC) coupled to a triple quadrupole mass detector (MS/MS) for the identification and quantification of organic contaminants such as carbamates, in different soil samples as a starting point of contamination to the environment, this method guarantees a good chromatographic separation of the components of the samples, the ionizations of the molecules and the separation of their fragments, which will be identified by their mass charge ratio (m/z), and their ion ratio, parameters that help to identify to the analytes of interest and the determination of much lower concentrations compared to other methods for determining these organic contaminants. Likewise, with the method there is a good recovery in the fortified samples and with much greater precision, they will also be studied. the parameters required by INACAL for the validation of said method, using the statistical calculations necessary for this purpose.

.

Keywords

Liquid chromatography High Pressure (UHPLC), triple quadrupole mass detector (MS / MS), organic contaminants, ions, fragments, ion ratio, validation.

CAPÍTULO 1: INTRODUCCIÓN

1.1 Situación Problemática

La contaminación del ambiente con contaminantes orgánicos como por ejemplo los pesticidas, han sido un grave problema los últimos años, ya que estos han tenido un fuerte impacto tanto en la salud humana como en la animal, contaminando suelos, agua y el aire que respiramos; en los suelos, su estudio es de gran importancia, ya que los contaminantes son transportados hacia las aguas subterráneas y otras efluentes naturales, en el caso de pesticidas como los carbamatos tales como el aldicarb y carbofurano, objeto de este trabajo, ellos en el ambiente se degradan en metabolitos los cuales tienen efectos más nocivos en los seres vivos. En normas legales como el ECA en aguas, exigen concentraciones permisibles en carbamatos teniendo como único parámetro al Aldicarb, discriminando al carbofurano como otro carbamato nocivo, y también no tomando en cuenta las diferentes reacciones que sufren estos carbamatos mientras son transportados por el suelo, estando presentes finalmente en las aguas los metabolitos que son de toxicidad más fuerte.

1.2 Formulación del problema

1.2.1 Problema General

¿Cómo validar un método de análisis de aldicarb, carbofurano con sus respectivos metabolitos en muestras de suelos, usando la cromatografía líquida acoplada a masas?

1.2.2 Problemas Específicos

- ¿De qué manera desarrollar los parámetros de validación, según DIRECTRIZ PARA LA VALIDACIÓN DE MÉTODOS DE ENSAYO Código: DA-acr-20D Versión: 00, a través de un nuevo método de análisis de aldicarb, carbofurano y sus respectivos metabolitos en muestras de suelos?
- ¿De qué manera la matriz de suelos influye en la detección, identificación y cuantificación de aldicarb, carbofurano y sus respectivos metabolitos?

1.3 Justificación Teórica

El presente trabajo de investigación consiste en validar un método capaz de cuantificar contaminantes orgánicos como los carbamatos y sus metabolitos en suelos como origen de contaminación, este método puede detectar hasta concentraciones muy bajas de los carbamatos de interés. Esto es debido a que la concentración del analito original disminuye debido a diferentes factores como que este se degrada al reaccionar con componentes químicos presentes en el suelo, formando los metabolitos que son perjudiciales para el ambiente y los seres vivos, siendo este método capaz de detectar también estos metabolitos.

1.4 Justificación Práctica

Se propone un método que sea muy sensible, capaz de detectar concentraciones de estos carbamatos en concentraciones de ppb o ng/mL, con buena precisión y veracidad. La importancia tecnológica de esta investigación es ofrecer un método que pueda detectar en concentraciones bajas de los pesticidas de interés en muestras complejas como los suelos, en poco tiempo de respuesta, con columnas

de tamaño de partícula de 1,0 a 2,5 μm y de 5cm de longitud para una buena separación de los componentes de muestras, trabajando a altas presiones, como solo un UHPLC puede trabajar y un detector espectrómetro de masas puede detectar y cuantificar.

1.5 Objetivos

1.5.1 Objetivo General

Validar un método de análisis para aldicarb, carbofurano con sus respectivos metabolitos en muestras de suelos, usando la cromatografía líquida acoplada a masas.

1.5.2 Objetivos Específicos

- Desarrollar los parámetros de validación según DIRECTRIZ PARA LA VALIDACIÓN DE MÉTODOS DE ENSAYO Código: DA-acr-20D Versión: 00 de un método de análisis de aldicarb, carbofurano y sus respectivos metabolitos en muestras de suelos.
- Establecer la detección, identificación y cuantificación de aldicarb, carbofurano y sus respectivos metabolitos en muestras de suelos.

CAPÍTULO 2: MARCO TEÓRICO

2.1 Marco Filosófico o epistemológico de la investigación

El uso de componentes orgánicos como los pesticidas, de los cuales los carbamatos son los productos más comunes, y tienen movilidad en suelos y gran solubilidad en el agua, también tienen la propiedad química de transformarse en otras moléculas que pueden tener toxicidad más alta (Flores M. *et al.* -2011). Los pesticidas son sustancias o mezclas de ellas cuyo fin es controlar y exterminar plagas como insectos o arácnidos que dañan la producción de cultivos, también a especies de plantas no deseadas en estos y a vectores de enfermedades que puedan causar daños a la salud humana y animal (FAO-2012). Como consecuencia del uso de estos en la agricultura, los agricultores están propensos a la mutación de sus cromosomas, daños neurológicos, y causar leucemia y cáncer de vejiga. (Prieto F.-2012)

Los pesticidas se clasifican según su estructura química tales como los carbamatos, organofosforados, organoclorados, tiocarbamatos, triazinas y más grupos, pues los grupos funcionales presentes en las moléculas de cada uno de estos pesticidas dan las diferentes propiedades fisicoquímicas y es por ello que pueden retenerse en los suelos o lixiviarse hasta llegar a las aguas subterráneas y después dependiendo de su solubilidad en ella puede ser transportada por el agua. En el caso de los suelos se determina como los pesticidas pueden ser adsorbidos en el suelo dependiendo de su capacidad de adsorción, y es ahí donde la propiedad física de retención del suelo el cual no cambia la naturaleza de las moléculas sino como acumula el pesticida ya sea en la misma superficie o en el interior del suelo. (Aparicio V. *et al.*-2015)

Cuando los pesticidas, como los carbamatos tienen dos mecanismos por el cual son transportados a través del suelo que son convección y difusión, este transporte depende de la porosidad del suelo. (Jury W., y Flühler H.-1992)

La convección es el movimiento del pesticida disuelto en agua teniendo un vector de flujo de soluto convectivo local: (Jury W., y Flühler H.-1992)

$$V_{sc} = V_w \cdot C_l \quad [1]$$

Donde V_w es el vector del flujo de agua y C_l es la concentración del fluido local. El fluido local dentro del agua que lo transporta, tiene el siguiente flujo de soluto de difusión según la Ley de Fick: (Jury W., y Flühler H.-1992)

$$V_{sd} = -D_l^w \left(\frac{\partial C_l}{\partial x} i + \frac{\partial C_l}{\partial y} j + \frac{\partial C_l}{\partial z} k \right) \quad [2]$$

Donde D_l^w es el coeficiente de distribución binaria en el agua e i, j, k son los vectores unitarios tridimensionales. Las relaciones entre los vectores de convección y difusión es la siguiente: (Jury W., y Flühler H.-1992)

$$V_l = V_w + V_{sd} \quad [3]$$

Siendo V_l el vector del flujo total del soluto total, describiendo así el movimiento del soluto en el agua. (Jury W., y Flühler H.-1992)

El suelo contiene en él cantidad de agua, aire y componentes químicos que puedan tener alguna reacción con el pesticida; entonces *Jury W.* formuló la siguiente ley conservación de masa, en un determinado volumen de suelo:

$$\left(\frac{\partial C_t^r}{\partial t} + \frac{\partial J_s}{\partial z} + r_s \right) = 0 \quad [4]$$

Siendo C_t^r la concentración total del componente químico (masa del componente químico por volumen de suelo) que depende del tiempo, en el suelo, J_s es el flujo total del compuesto químico (flujo por volumen de suelo), que depende en que eje es transportado el componente químico ya que esta ecuación al ser aplicada en los ejes X y Y cambiaría la derivada parcial del flujo con respecto a X y Y, por último r_s

es la tasa de pérdida del componente químico (taza de pérdida por volumen de suelo) ya que el componente químico puede reaccionar con otros compuestos químicos presentes en el suelo generando metabolitos y bajando su concentración original. Sin embargo el componente químico puede estar disuelto en el agua, adsorbido al suelo o en una fase líquida no acuosa, teniendo la siguiente expresión:

$$C_t^r = aC_g^r + \theta C_l^r + \rho C_a^r + \eta C_n^r \quad [5]$$

Siendo a el contenido de aire por volumen de suelo, θ el contenido de agua por volumen de suelo, ρ densidad de suelo seco, η es el volumen de fase líquida no acuosa por volumen de suelo, C_g^r concentración de componente químico presente en el aire contenido en el suelo, C_l^r concentración de componente químico disuelto en el agua, C_a^r concentración de componente químico adsorbido por el suelo y C_n^r concentración de componente químico presente en la parte líquida no acuosa. (Jury W., y Flüher H-1992)

Se toma en cuenta la concentración del componentes químico disuelto en agua, y determinar su flujo de convección reemplazando C_l^r en la ecuación [1].

$$J_{sc} = J_w \cdot C_l^r \quad [6]$$

De la ecuación [2] se determina su flujo de difusión, teniendo en cuenta la porosidad del suelo Φ , y un factor de tortuosidad $\xi_l^{(\theta)}$. (Jury W., y Flüher H-1992)

$$J_{sd} = -\xi_l^{(\theta)} D_l^w \left(\frac{\partial C_l^r}{\partial z} \right) \quad [7]$$

Siendo:

$$\xi_l^{(\theta)} = \frac{\theta^{10/3}}{\Phi^2} \quad [8]$$

Modelo de Millington y Quirk

2.1.1 Carbamatos

Los carbamatos son ésteres sustituidos del ácido carbámico (Ver Fig. 1) sustituyendo en los átomos de oxígeno y nitrógeno con grupos aromáticos y alifáticos, los carbamatos son tóxicos porque inhiben la enzima acetilcolina esterasa, pero si su dosis fue subletal se podría recuperar de la inhibición siendo reversible, sin embargo los carbamatos son altamente tóxicos siendo la dosis letal en ratas de 0,93 mg/kg del peso del cuerpo, la vida media de los carbamatos en suelos tiene un rango de 2 semanas a 3 meses dependiendo de las condiciones como la humedad, temperatura, población microbiana, pH y materia inorgánica. (Mason Y. *et al*-1990)

2.1.1.1 Aldicarb

El aldicarb es comercialmente conocido como Temik, (en Perú es conocido como Temik 15 y su uso esta restringido y registrado, según SENASA). Su grado de toxicidad es de 0,62- 0,93 mg/kg en ratas, la EPA lo considera de alta peligrosidad y la Agencia Internacional de Investigación sobre el Cáncer IARC lo pone en el grupo 3 (no está clasificado respecto a la cancerogenicidad del ser humano).

Tiene su aplicación en la agricultura, siendo empleado en el suelo durante la siembra, donde la raíz de la planta lo absorbe, y se traslada por todo el sistema del vegetal, es allí donde las plagas como los insectos al alimentarse mueren, es altamente tóxico para las lombrices de tierra.(Mariño, D.-2013)

- **Propiedades fisicoquímicas del aldicarb**

Punto de Fusión: 90-100°C

Densidad: 1.2 a 25°C

Solubilidad: H_2O a pH 7: 4.93 g/L a 20°C

Peso Molecular: 190.27 g/mol

Nombre IUPAC: 2metil-2-(metiltio)propionaldehido

O-(metilcarbamoil)oxima.*

- **Metabolización del Aldicarb**

El aldicarb tiene una reacción de hidrólisis del grupo éster del carbamato, en los suelos sufre oxidación por microorganismos en su átomo de azufre a grupo sulfóxido (2-metil-2-(metilsulfinil)propionaldehido O-(metilcarbamoil)oxima)[†] el cual antes de reaccionar hidrolíticamente con agentes no colinérgicos, inhibe la enzima acetilcolina esterasa con más potencia que el aldicarb y después cierta cantidad de moléculas aldicarb sulfóxido siguen oxidándose de manera lenta hasta formar el grupo sulfona (2-metil-2-(metilsulfonil)propionaldehido O-(metilcarbamoil)oxima)[‡], en la superficie del suelo se lleva a cabo la mayor ruta de degradación de aldicarb en condiciones microbiológicas aeróbicas (Baron, R. and Merriam, T.-1988), mientras que anaeróbicamente se ha registrado que los grupos oxidados como el sulfoxido y sulfona pueden reducirse al átomo de azufre original del aldicarb (Ver Fig. 2). Las reacciones del aldicarb para la formación del aldicarb sulfóxido y el

* Sinónimo 6, Bases de datos NIST MS search 2.2 Aldicarb

† Sinónimo 4, Bases de datos NIST MS search 2.2 Aldicarb Sulfóxido

‡ Sinónimo 4, Bases de datos NIST MS search 2.2 Aldicarb Sulfona

aldicarb sulfona cumple las siguientes ecuaciones de cinética de primer orden:(Ou, L., *et al*-1988)

$$\frac{dA}{dt} = -[K_1A + K_3A] = -K_{13}A \quad [9]$$

$$\frac{dB}{dt} = K_1A - [K_2B + K_4B] = K_1A - K_{24}B \quad [10]$$

$$\frac{dC}{dt} = K_2B - K_5C \quad [11]$$

Siendo A, B y C las concentraciones del aldicarb, aldicarb sulfóxido y aldicarb sulfona en (ug/g de suelo), K_1 y K_2 son las constante de oxidación para el aldicarb ($días^{-1}$) y el aldicarb sulfóxido respectivamente, mientras que K_3 , K_4 y K_5 son las constantes de hidrólisis ($días^{-1}$) para el aldicarb, aldicarb sulfóxido y aldicarb sulfona respectivamente.

En el 2002 se hicieron estudios sobre el aldicarb, adicarb sulfona y sulfóxido a condiciones controladas de laboratorio, midiendo tiempo de degradación al 50% DT_{50} siendo el aldicarb la molécula con degradación mas rápida de solo un día, sin embargo sus estructuras oxidadas como el aldicarb sulfóxido tiene una degradación de 7 días y el aldicarb sulfona tiene una degradación de 12 días. (Barra A. *et al*-2002)

2.1.1.2 Carbofurano

El carbofurano es comercialmente conocido como Furadan, en la agricultura es usado como pesticida de amplio espectro, tiene un uso de polvo humectable pero realmente es un sólido cristalino blanco. El carbofurano es eficaz en las plagas de gorgojo de la alfalfa, afidos, escarabajo de la papa, gusano de la papa, etc. Tiene una baja adsorción al suelo siendo su $K_{DC} = 22$, siendo así fácilmente transportable en el

suelo logrando contaminar las aguas subterráneas, lagos, ríos, etc. (Trotter, D. *et al*-1991)

El carbofurano es de alta toxicidad, ya sea vía oral o respiratoria, su índice de toxicidad es de 7mg/kg en ratas, es inhibidor de la enzima colina esterasa y ataca al sistema nervioso en corto plazo la OMS lo considera en el grupo Ib como altamente peligroso.(EXTOXNET-2001). La EPA lo considera de alta toxicidad ya que se reportaron muertes masivas de aves que ingestaron carbofurano en campos cercanos en donde se aplicaron dicho pesticida.(Erwin *et al*-1991)

En 1973 se observó que la vida media del carbofurano varía dependiendo el tipo del suelo, como por ejemplo en el limo es de 2 semanas y en el arcilloso es de 8 semanas, esto se asoció a la evolución gradual de CO_2 en el suelo.(Getzin, L.-1973)

- **Propiedades fisicoquímicas del Carbofurano**

Punto de Fusión: 150-152°C

Solubilidad: 351 ppm a 35°C

Peos Molecular: 221.9 g/mol

Nombre IUPAC: 2,3-dihidro-2,2 dimetilbenzofurano-7-metilcarbamato

- **Metabolización del Carbofurano**

El carbofurano tiene una reacción de hidrólisis en el ambiente y sus metabolitos son encontrados en el agua subterránea gracias a su fácil movilidad en el suelo.(Bachman, J. and Patterson, H.-1999) La hidrólisis tiene la tasa más alta obteniendo 3-hidroxi-7 fenilcarbofuran en condiciones alcalinas pH=10.

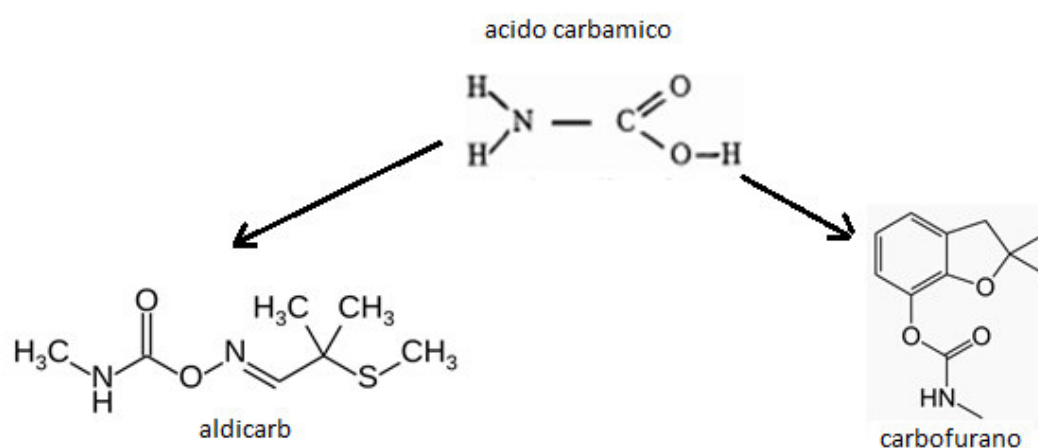
Los organismos microbiológicos también son responsables de las reacciones de degradación a condiciones neutras y ácidas.

Las reacciones de oxidación y conjugación que sufre el carbofurano, oxidándose lentamente a 3-cetocarbofuran, por acción del citocromo P450, pero el 3-cetocarbofuran no es estable y es rápidamente hidrolizado a 3-ceto-carbofuranfenil por acción de las enzimas. (Ver Fig.3).

El carbofurano es causante de las muertes de muchas aves ya que estas tuvieron contacto directo con el carbamato mientras se tamizaban los sedimentos, en vista de este daño a las aves y los riesgos a la salud humana, el carbofurano es prohibido en Estados Unidos. (Environmental Monitoring Branch Department of Pesticide Regulation)

Figura 1

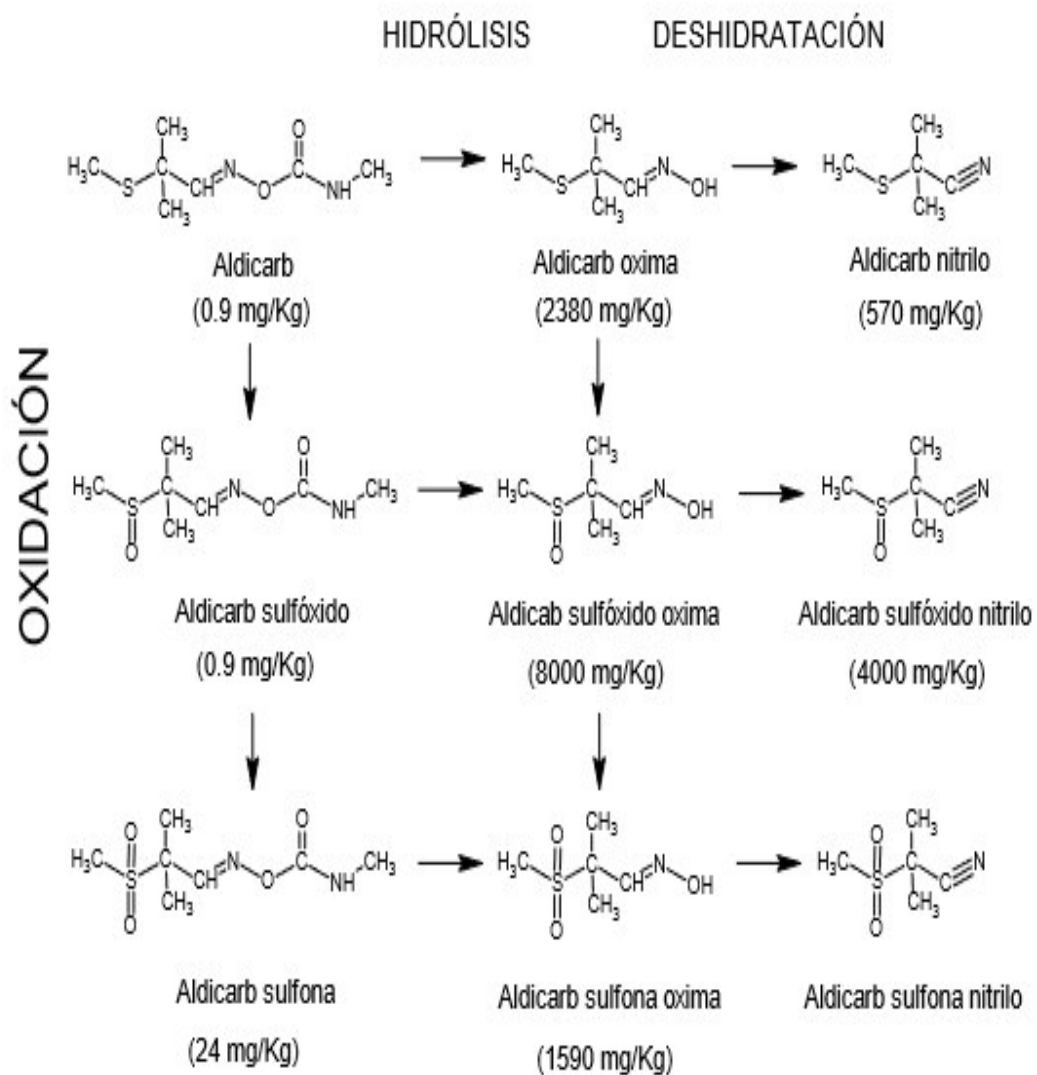
Los carbamatos derivados del ácido carbámico



Nota. El ácido Carbámico, pierde su H^+ , generando diferentes ésteres llamados carbamatos

Figura 2

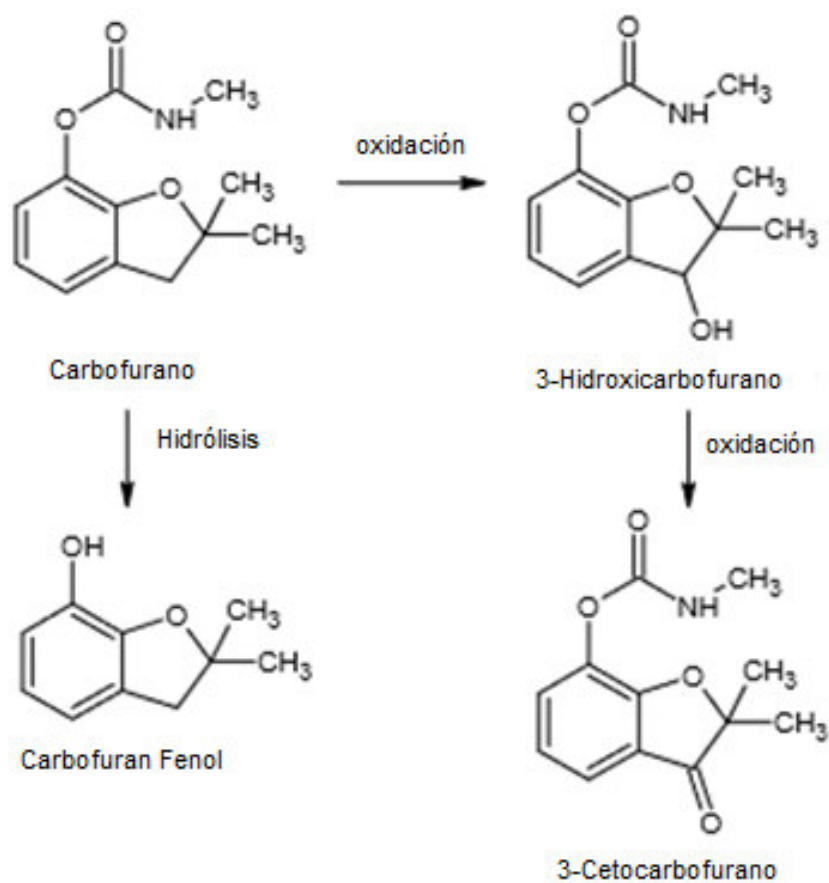
Metabolización del aldicarb



Nota. Modificada de (Risher et. Al, 1987)

Figura 3

Metabolización del carbofurano



Nota. Modificado de Petropoulou, Gikas, Tzarbopoulos, and Siskos, 2006

2.1.2 Los carbamatos en el Perú

En los Andes peruanos se han usado con mucha frecuencia los pesticidas como los carbamatos tales como el carbofurano en sus presentaciones como furadan y curater en las localidades del Valle del Mantaro y en Cuzco en 1997, estos carbamatos son usados por campesinos que laboran en los cultivos de la papa. (Lazo C. y Gamboa N.-1997) Estos pesticidas son lixiviados por el suelo siguiendo un ciclo tales como se muestran en la Fig. 4.

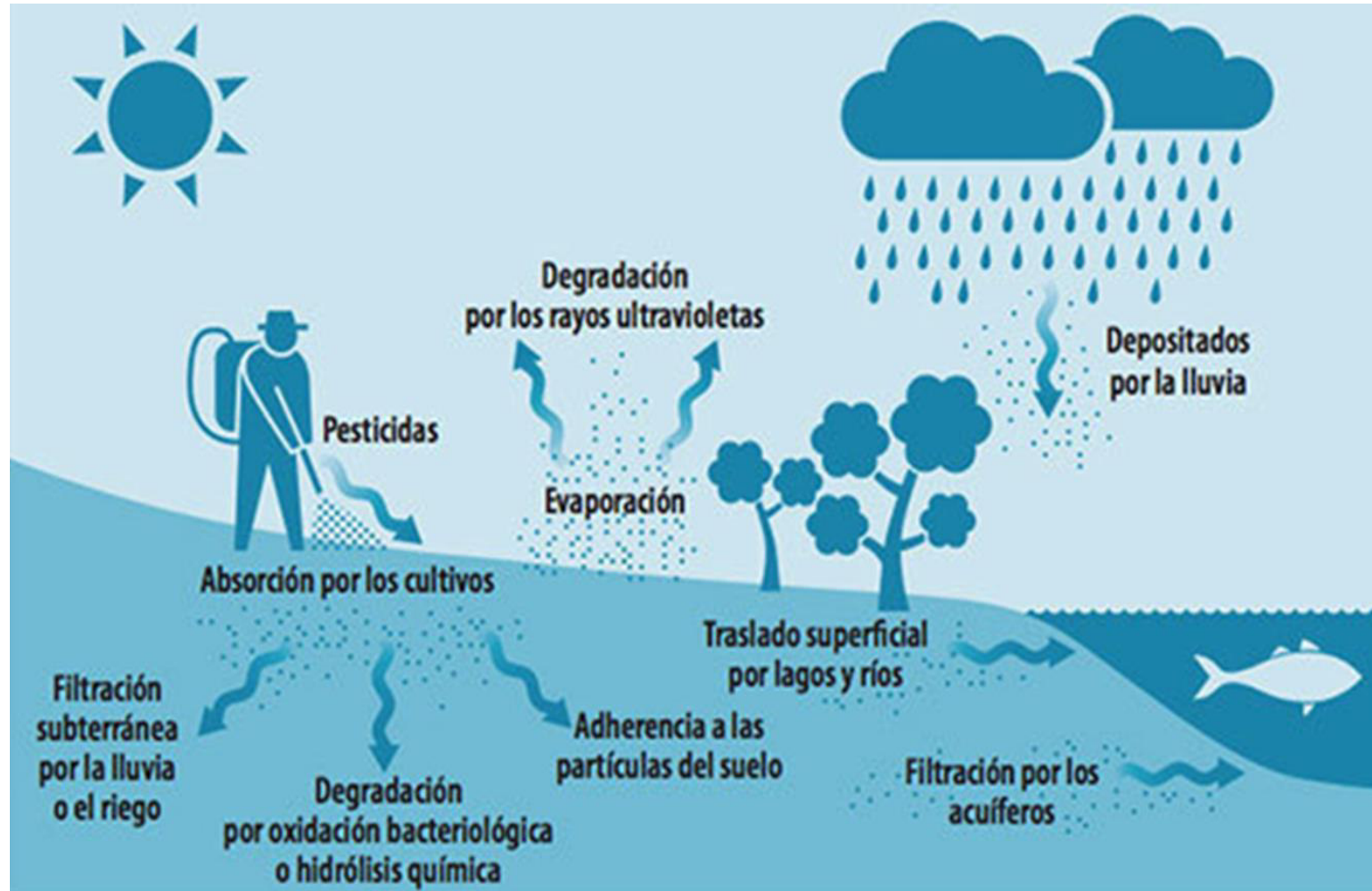
En la sierra central del Perú, se hicieron estudios en el año 2009, los agricultores tienen un manejo deficiente de los pesticidas, y un uso indiscriminado en la localidad considerándola como zona de un posible peligro en contaminación de pesticidas. (Montoro Y. *et al*-2009)

Siendo de mucha preocupación como el uso inadecuado de estos compuestos orgánicos pueden afectar a los habitantes de la zona: como los agricultores y sus familias, a los pescadores artesanales e industriales ya que ellos también se ven afectados por la contaminación de todo el ecosistema, y a los animales que consumen el agua y los productos naturales contaminados.

En el norte Perú, en la provincia de Piura, en el año 2014 hubo antecedentes sobre el uso de plaguicidas, como en los cultivos de tomate y mango, siendo afectados los agricultores al no trabajar con un equipo adecuado para el manejo de estas sustancias orgánicas, y a su vez ellos causaron la contaminación en la cuenca baja del río Piura lavando los equipos usados para la aplicación de pesticidas en los cultivos. (Andrea, F.-2014)

Figura 4

Los pesticidas y su contaminación en el medio ambiente.



Nota. Fuente: www.salyroca.es. Artículo así afectan los plaguicidas

2.2 Antecedente de investigación

Muchos métodos de ensayo para el análisis de carbamatos toman como referencia el EPA 8318, de los cuales se ha mejorado la técnica de extracción, y desde luego el análisis cromatográfico. Una manera óptima, sencilla y rápida de poder extraer los analitos como los carbamatos, es someter la muestra a una extracción sólido líquido con diclorometano, pesando $\pm 5,0000$ g de una muestra de suelo contaminado con el carbamato de interés, y luego extraer con agitación y sonicación durante 2 horas, para una buena extracción del solvente, luego obtener el sobrenadante después de una centrifugación por 15 minutos a 16366 rpm, repitiendo este procedimiento tres veces, para luego llevarlo a un clean-up, el cual tiene como objetivo eliminar cualquier interferencia propia de la muestra, luego se elimina el solvente de la muestra con nitrógeno, para luego ser reconstituido con metanol, el cual finalmente será analizado. Este método ha sido muy útil para la cuantificación de suelos fortificados con carbofurano, los cuales fueron muestreados en la granja de la Universidad de Agricultura de China, los cuales también fueron dispuestos a un tratamiento de remediación microbiológica, obteniendo en el análisis una recuperación del 95,5 % al 102,3 %, teniendo para su análisis un HPLC con detector UV/Vis (276-216nm). (Yang L. *et al*-2011)

Un Clean up efectivo en el caso de los carbamatos en suelos hacer un filtrado de los extractos de las muestras en cartuchos C-18 o SPE, los cuales sirven como filtro de las muestras que pasan a través de ellos, y los componentes son retenidos por el cartucho, luego eluidos, por un solvente que varía según sea el método de extracción, como en este caso es el metanol (Parcasio C., *et al*-2014).

Sin embargo, la tecnología en el análisis cromatográfico ha avanzado, hasta llegar a tener acoplado un cromatógrafo líquido a un espectrómetro masas con triple

cuádruplo, el cual permite la identificación de los iones precursores y los iones productos que se generan de los analitos presentes en la muestra, dicho acoplamiento ha propiciado tener un tipo de cromatografía líquida como el UPLC o UHPLC, (Ahumada, D., *et al*-2013) el cual permite la separación de los componentes de la muestra en poco tiempo, con una mejor separación gracias a una columna especial con un tamaño de partícula de 1,7 μm . Este método en particular cuenta con una fase móvil que consta de una fase móvil A: Agua98%/ (metanol (HCOOH)0.1%)2%, y una fase móvil B: metanol (HCOOH)0.1%, los cuales se mezclan en modo gradiente, con un flujo de 0.5 mL/min, obteniendo así una buena separación de los pesticidas presentes en la muestra, se podrá identificar todos los componentes dependiendo de su relación m/z y su respectivo pico cromatográfico, esto puede ser cuantificado gracias a una curva de calibrado la cual tiene una buena linealidad con un $r > 0.995$, generando así resultados más confiables, teniendo una buena recuperación con una fortificación de 100ng/L. (Silcock, P., *et al* -2010).

Tabla 1*Métodos de extracción de carbamatos*

Referencia	Peso de muestra (aprox.)	Solvente	Método de extracción	Secador	Reconstituyente	Clean-up	Eluyente
Basheer, C., Alnedhary, A, Rao, B. and Lee, H. (2009).	20 g	Diclorometano 50 mL	Sonicador: 1 h	Rotavapor	metanol	Cartucho C18	Acetonitrilo
Lu, H., Lin, Y., and Chris, P. (2009).	5 g	ácido mono cloroacético al 0.015 mM	Agitador: 2 h Centrifuga (5654rpm): 30 min	-	-	Cartucho C18	Acetonitrilo
Drożdżyński, D. and Kowalska, J. (2009).	5 g	5 mL de agua, 10 µL de ácido acético, MgSO ₄ , PSA	Agitador: 2 h Centrifuga (4500 rpm): 2.5 min	Nitrógeno	Metanol (acetato de amonio 0.1 %)	Cartucho C18	Agua (acetato de amonio 0.1%)
Yu, X., Ying, G., and Kookana, R. (2009).	5 g	10 mL Acetona: hexano (1:1)	Vortex: 1 min Sonicador: 2 h Agitador: 12 h Centrifuga (7618rpm): 15 min	Nitrógeno	Fase móvil: acetónitrilo : agua (7:3)	-	-

Continuación tabla 1: Métodos de extracción de carbamatos

Referencia	Peso de muestra (aprox)	Solvente	Método de extracción	Secador	Reconstituyente	Clean-up	Eluyente
Otieno, P., Lalah, J., Virani, M., Jondiko, I., and Schramm, K. (2010).	25 g	Mezcla Diclorometano: acetona (10:3)	Soxhlet : 4 h	Rotavapor a 2 mL	-	Columna de vidrio con florisil	Metanol
Valencia Y., Potosí S., Valencia E., Bravo I. (2010).	12.5 g	acetato de etilo y sulfato de sodio anhidro	agitador: 3 h	Rotavapor /Nitrógeno	metanol	Cartucho C18	Acetonitrilo metanol
Goulart, S., Alves, R., Neves, A., de Queiroz, J., de Assis, T., and de Queiroz, M. (2010).	-	Acetonitrilo, metanol, hexano: diclorometano (85:15), acetoneitrilo: acetato de etilo (81.25: 18.75)	Vortex: 1 min Sonicador: 10 min Agitador: 20 min	-	-	Cartuchos SPE	-
Zhou, S., Chen, H., Wu, B., Ma, C., and Ye, Y. (2011).	20 g	Acetonitrilo, NaOH y Sulfato de Sodio anhidro	Sonicador	Rotavapor: 40 °C	-	Cartucho C18	Agua
Yang, L., Chen, S., Hu, M., Hao, W., Geng, P., and Zhang, Y. (2011).	2 g	Diclorometano 50 mL	Sonicador: 2 h Centrifuga (16366 rpm): 15 min	Nitrógeno	-	Cartucho C18	metanol

Continuación tabla 1: Métodos de extracción de carbamatos

Referencia	Peso de muestra (aprox)	Solvente	Método de extracción	Secador	Reconstituyente	Clean-up	Eluyente
Alister, C., Araya, M., and Kogan, M. (2011).	20 g	Metanol	Centrifuga (300 rpm): 90 min	Rotavapor	Metanol	-	-
Bol'shakov, D., Amelin, V., and Tret'yakov, A. (2013).	10 g	Acetonitrilo 5ml, sulfato de magnesio, NaCl.	Rotavapor y Nitrógeno	-	-	QuEChers	-
Ahumada, D., Arias, L., and Bojacá, C. (2013).	5 g	Acetonitrilo, acetona, acetato de sodio y agua	Sonicador: 20 min Agitador: 2 min	Nitrógeno	acetonitrilo	-	-
Zhu R., Yan L., Guo L., Yong Y., Xiao W., Yi W. and Ran G. (2014).	5 g	Acetona : cloruro de metileno (3:1)	Sonicador: 1 hora	Nitrógeno	-	QuEChers	Metanol: agua (1:1)
Parcasio C., Lizano A., and Pythias M. (2014).	-	acetonitrilo-metanol-hexano	Extracción Soxhlet	Rotavapor: 35 °C	Metanol	Cartuchos SPE	Metanol 3mL Cloruro de metileno: metanol (80:20)
Naseema S., Ambily P., Thomas G., Thomas B., Pratheesh N., Pradeep K., et all. (2014).	10 g	20 mL de acetonitrilo, 4 g de MgSO ₄ , y 1 g de NaCl	Agitador: 1 min Centrifuga (4400 rpm): 10 min	Rotavapor: 40 °C	Metanol	-	-

Continuación tabla 1: Métodos de extracción de carbamatos

Referencia	Peso de muestra (aprox)	Solvente	Método de extracción	Secador	Reconstituyente	Clean-up	Eluyente
Garrido I., Vela N., Fenoll J., Navarro G., Pérez G., and Navarro S. (2015).	10 g	Acetonitrilo /agua 2:1	Sonicador Centrifuga (9210rpm)	Rotavapor	acetonitrilo	-	-
Masiá, A., Vázquez, K., Campo, J., and Picó, Y. (2015).	1 g	Acetonitrilo a 100 °C y 1500 psi	Celda de extracción de acero inoxidable	Nitrógeno hasta 1 mL	-	QuEChers	-
Murillo J., García L., and Carrasquero A. (2018).	5 g	Metanol	Agitador magnético Centrifuga: 10 min	-	-	-	-
Yusiasih, R., Efendi, Ptoi, M. M., and Hariyadi, H. R. (2018).	5 g	Acetonitrilo 20 mL	Sonicador: 3 h Centrifuga (4000 rpm): 5 min	-	-	-	-

Tabla 2*Métodos cromatográficos de cuantificación de carbamatos*

Referencia	Columna	Fase Móvil	Detector
Basheer, C., Alnedhary, A, Rao, B. and Lee, H. (2009).	C-18 (150 mm × 3.2 mm)	Acetonitrilo-agua (40-60) Flujo: 0.5 mL/min	UV/Vis 225 nm
Lu, H., Lin, Y., and Chris, P. (2009).	C-18 (150 mm × 3.9 mm) Con derivatizador post-columna	Acetonitrilo, metanol y agua (según EPA 531.2) Flujo: 1.5 mL/min	Fluorescencia 339 a 445 nm
Drożdżyński, D. and Kowalska, J. (2009).	C-18 (2.1 mm × 100 mm) partícula: 1.7 µm Horno de columna: 30°C	Agua (NH ₄ CH ₃ COO)0.1%: metanol (NH ₄ CH ₃ COO)0.1% (modo gradiente) Flujo: 1.5 mL/min	MS/MS
Yu, X., Ying, G., and Kookana, R. (2009).	C-18 (250 mm × 4.6 mm) partícula: 5 µm	Acetonitrilo-agua (3:7) Flujo: 1 mL/min	UV/Vis 210 nm
Otieno, P., Lalah, J., Virani, M., Jondiko, I., and Schramm, K. (2010).	C-18 (250 mm × 4.6 mm) partícula: 5 µm	Acetonitrilo-agua (4:1) Flujo: 1 mL/min	UV/Vis 254 nm
Silcock, P., Booth, B., Morphet, J., Riches, E. and Hancock, P. Waters Corporation. (2010).	C-18 (100 mm × 2.1 mm) partícula: 1.7 µm	Agua98%/(metanol (HCOOH)0.1%)2%: metanol (HCOOH)0.1% (modo gradiente) Flujo: 0.5 mL/min	MS/MS
Valencia Y., Potosí S., Valencia E., Bravo I. (2010).	C-18 (4.6 mm × 25cm) partícula : 5 µm	Acetonitrilo-agua (60-40) Flujo: 0.7 mL/min	UV/Vis 205 nm
Goulart, S., Alves, R., Neves, A., de Queiroz, J., de Assis, T., and de Queiroz, M. (2010).	C-18 (150 mm × 4.6 mm) partícula: 3 µm	Acetonitrilo-agua (35-65) Flujo: 0.8 mL/min	UV/Vis (195-213) nm
Zhou, S., Chen, H., Wu, B., Ma, C., and Ye, Y. (2011).	C-18 (250 mm × 4.6 mm) partícula: 5 µm	Metanol-agua (58-42) Flujo: 0.8 mL/min	Fluorescencia 246 a 278 nm
Yang, L., Chen, S., Hu, M., Hao, W., Geng, P., and Zhang, Y. (2011).	C-18 (125 mm × 4 mm) partícula: 5µm	Metanol-agua (55-45) Flujo: 0.8 mL/min	UV/Vis (276-216) nm

Continuación tabla 2: Métodos cromatográficos de cuantificación de carbamatos

Referencia	Columna	Fase Móvil	Detector
Alister, C., Araya, M., and Kogan, M. (2011).	C-18 (125 mm) partícula: 5µm Horno de columna: 30°C	Acetonitrilo-agua (55-45) Flujo: 1 mL/min	DAD (190-400) nm
Bol'shakov, D., Amelin, V., and Tret'yakov, A. (2013).	Tamaño de capilar (75 µm x 60 cm)	-	Electroforesis capilar con detector UV
Ahumada, D., Arias, L., and Bojacá, C. (2013).	C-18 (75 mm x 2 mm) partícula: 2.1 µm Horno de columna: 40°C	Agua((HCOOH)0.1%+5mM(NH4CH3COO)): acetonitrilo((HCOOH)0.1%+5mM(NH4CH3COO)) (modo gradiente) Flujo: 0.3 mL/min	MS/MS
Zhu R., Yan L., Guo L., Yong Y., Xiao W., Yi W. and Ran G. (2014).	C-18 (150 mm x 3.9 mm) partícula: 2.1 µm Horno de columna: 40°C	Metanol-agua (modo gradiente) Flujo: 0.3 mL/min	MS/MS
Parcasio C., Lizano A., and Pythias M. (2014).	C-18 (250 mm x 4.6 mm) partícula: 5 µm	Acetonitrilo-agua (50-50) Flujo: 1 mL/min	UV/Vis (195-254) nm
Naseema S., Ambily P., Thomas G., Thomas B., Pratheesh N., Pradeep K., et al. (2014).	C-18 (100 mm x 2.1 mm) partícula: 5 µm	Agua(5mM(NH4CH3COO)): metanol(5mM(NH4CH3COO)) (modo gradiente) Flujo: 0.8 mL/min	MS/MS
Garrido I., Vela N., Fenoll J., Navarro G., Pérez G., and Navarro S. (2015).	C-8 (150 mm x 4.6 mm) partícula: 5 µm	Acetonitrilo- HCOOH0.1% (modo gradiente)	MS/MS
Masiá, A., Vásquez, K., Campo, J., and Picó, Y. (2015).	C-18 (150 mm x 3.9 mm) partícula: 1 µm Horno de columna: 40°C	Metanol-agua (modo gradiente) Flujo: 0.5 mL/min	MS/MS
Murillo J., García L., and Carrasquero A. (2018).	C-18 (150 mm x 4.6 mm)	Acetonitrilo-agua (40-60) Flujo: 1 mL/min	UV/Vis (300-900) nm
Yusiasih, R., Efendi, Pitoi, M. M., and Hariyadi, H. R. (2018).	C-18	Acetonitrilo-agua (1:1) Flujo: 0.8 mL/min	UV/Vis 275 nm

2.3 Bases Teóricas

2.3.1 Análisis en cromatografía líquida de ultra alta eficacia (UHPLC) de carbamatos en suelos

La técnica de cromatografía fue llamada así por el botánico ruso *Mikhail Tswett* y fue el nombre que usó para la separación de pigmentos de plantas, nombre que proviene del griego Chroma: color y graphein: escribir, por las bandas coloreadas de pigmentos que se separaban por su adsorción selectiva en columna de vidrio rellena de carbonato de calcio. (Skoog, A. *et al.*-2001)

En 1930 se usó en esta técnica el hidróxido de calcio activado, aluminio y magnesio *por Karrer, Kuhn y Strain*, esta técnica tuvo otras variantes como: cromatografía de reparto (*Martin y Synge*, 1941) de papel (*Consdon, Gordon y Martin*, 1944), de capa fina (*Kirchner*, 1951), siendo el desarrollo más importante la cromatografía de gases (*Martin y James*, 1952), que ayudo al desarrollo de la teoría de la separación cromatográfica. (Romero, A.-2002)

La cromatografía es un método de separación de mezclas complejas, las cuales son muy difíciles de separar por otros métodos. Consta de dos fases: fase estacionaria y fase móvil, el proceso de separación se da por la sorción y desorción ocurrida repetidamente durante el paso de los componentes llevados por la fase móvil que puede ser un gas, liquido o fluido supercrítico. Los componentes que son afines a la fase estacionaria son retenidos fuertemente por la fase estacionaria, mientras los que son

menos afines, son retenidos débilmente por la fase estacionaria y llevados rápidamente por el flujo de la fase móvil, produciéndose de esta forma la separación de los componentes de la mezcla en estudio.

Dependiendo de la naturaleza de las fases móviles y estacionarias se clasifica el tipo de cromatografía como: cromatografía líquida, cromatografía de gases y cromatografía de fluidos supercríticos.

El cromatograma es la respuesta de un detector a la concentración de soluto después de la separación cromatográfica en función del tiempo, observándose los picos que representan cada soluto de la mezcla.

Los picos presentes en el cromatograma se distribuyen dependiendo del tiempo de retención (t_r), que es el tiempo transcurrido entre la inyección de la muestra hasta presencia de este pico. (Skoog, A. *et al.*-2001)

En la cromatografía líquida, la fase móvil es compuesta por la mezcla de solventes que debido a su naturaleza química son capaces de interactuar con la muestra y una columna cromatográfica como fase estacionaria en la cual ocurren una variedad de interacciones como: hidrofóbicas, puentes de hidrogeno o dipolares y electrostáticas, las cuales determinan la afinidad de cada compuesto de la mezcla con la fase estacionaria o con la fase móvil. Por lo tanto, las condiciones cromatográficas como el tipo de fase móvil, fase estacionaria, longitud de la columna, tamaño de partícula, temperatura del horno de columna son determinantes para una buena separación cromatográfica. (McMaster, M. -2005)

La espectrometría de masas es la técnica en donde los compuestos pasan a ser iones en la fase gaseosa, luego son separados de acuerdo con su relación (m/z) masa /carga. El espectrómetro masas mide la

abundancia de las moléculas que fueron transformadas en iones. El espectro de masas es un gráfico que muestra la abundancia relativa de los iones dependiendo de la relación (m/z).

Existen diferentes maneras para ionizar al analito: térmica, con campos eléctricos o por impacto de electrones de alta energía. Los iones obtenidos pueden ser desde átomos a moléculas, o fragmentos de las moléculas ionizadas. (Gross, J. -2011)

El espectrómetro de masas reconoce a los iones moleculares, mediante parámetros generados en un proceso llamado optimización y sintonización de los analitos de interés, mayormente conocido como tuning, el cual hace posible generar parámetros como el spray voltage, la temperatura de capilar, la temperatura de vaporizador, los flujos del sheath gas y auxiliar gas, los cuales sirven para tener la información necesaria del ión precursor, y por último la masa de este ión, concluyendo la sintonización y asegurando el paso del ión producto al primer cuadrupolo, luego se realiza la optimización de las masas de los iones producto, los cuales serán generados en la celda de colisión, ahí los iones precursores se fragmentarán en reacciones múltiples, al ser colisionados con los átomos del gas argón, es ahí en donde se suma un nuevo parámetro como la energía de colisión, la cual será útil para reconocer a los iones producto mediante la monitorización de reacciones múltiple (MRM).

Al unir la cromatografía líquida con la espectrometría de masas, se vio de una manera mas atractiva, generar la cromatografía líquida de ultra alta performance (UHPLC), que, al comparar con un HPLC normal, es una

técnica que separa de una manera muy eficaz en un corto tiempo, teniendo una buena resolución entre los analitos separados, debiéndose esto, al pequeño tamaño de partícula en la columna, que también es de longitud muy corta. Los componentes de la muestra que son separados en la columna cromatográfica son ionizados aún en estado líquido por la sonda de ionización ESI, el cual protona o desprotona las moléculas de interés convirtiéndolas en iones moleculares, que luego serán analizados por el detector de espectrometría masas. (Schmitz, O.-2016)

Este método comprende el análisis de plaguicidas en una matriz de suelos por un equipo de cromatografía líquida acoplado a un espectrómetro de masas en tándem con inyección directa en una muestra con un $\text{pH} < 3,8$. Este método fue desarrollado para el bajo nivel de carbamatos en suelos afectados por pesticidas como los carbamatos, siendo modificado para tal fin. Los analitos se determinan de manera cualitativa y cuantitativa. Para ello, se adhiere a un análisis de espectrometría de masas con monitorización de reacciones múltiples (MRM), que puede llevar un detector masas triple cuadrupolo. (AB Sciex-2010)

El equipo masas de triple cuadrupolo consta de una fuente de ionización ESI (ionización de electrospray), donde la muestra líquida se introduce a través de un capilar al que se le aplica un elevado potencial (Ver Fig. 5), acompañado de un Heating Gas que es un gas nitrógeno externo, que pasa por el vaporizador que está aislado térmicamente para evitar el calentamiento directo con la muestra, el intervalo de temperatura de este oscila entre la temperatura ambiente y 600°C .

Los compuestos con presencia de nitrógeno como las aminas pueden formar una molécula protonada $[M + H]^+$, siendo los carbamatos como el aldicarb compuestos con presencia de nitrógeno ionizados de tal manera, o compuestos en donde la protonación sucede en un átomo de oxígeno como el carbofurano (Ver Fig. 6). En el modo de la polaridad de los iones positivos, la molécula protonada tiene el pico con un valor m/z de $M+1$, siendo M la masa de la molécula original. (Thermo-2008)

La fuente ESI produce un spray de microgotas cargadas, las cuales se separan por repulsiones electrostáticas, desolvatándose gracias a la asistencia del gas nitrógeno y a su vez evaporándose, por la alta temperatura del evaporizador, los iones en estado gaseoso entran al Heater flange ASSY (Assambly), llevados por el vacío producidos por el espectrómetro y son transportados a través del DL (línea de desolvatación) hacia los cuadrupolos. (Ver Fig. 7). (Jiang, Y. y Vaidya, L.-2012)

La fuente de ionización ESI funciona con una fuente eléctrica, que es el High Voltage supply, se regula el gas nitrógeno interno del nebulizador que es ayudado por el Heating Gas para la desolvatación de las soluciones de muestra. (Ver Fig. 8).

La caja de ionización trabaja con una temperatura de vaporizador, el cual evapora la muestra que viene junto con la fase móvil proveniente desde el cromatógrafo líquido, y expulsados desde la punta del capilar ASSY de la fuente ESI, los iones pasan a través de los electrodos Ion Focus, los cuales ayudan a focalizar los iones separándolos de componentes o

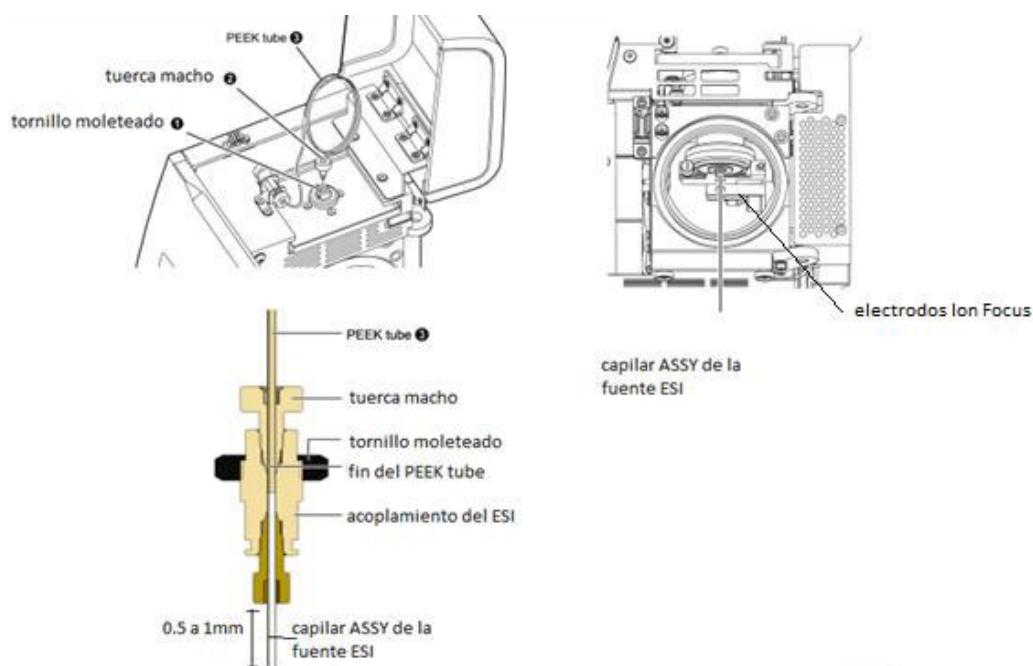
interferencias propios de la muestra, ayudando mejor a la sensibilidad del equipo.

Dependiendo de la estructura de la molécula del analito y del disolvente portador, los iones obtenidos pueden llevar una sola carga o varias cargas.

Las moléculas como los carbamatos son básicas y forman iones positivos. (Shimadzu-2020).

Figura5

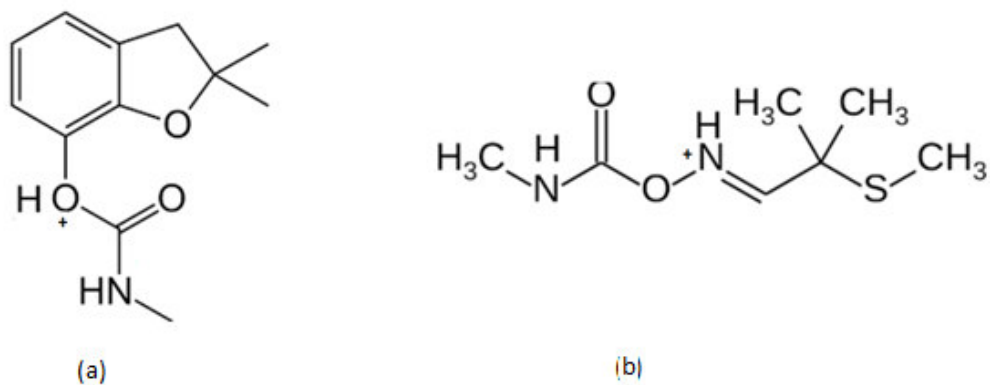
Esquema del acoplamiento de la sonda ESI



Nota. Fuente: Ion Focus. Shimadzu. Abril 2020.

Figura6

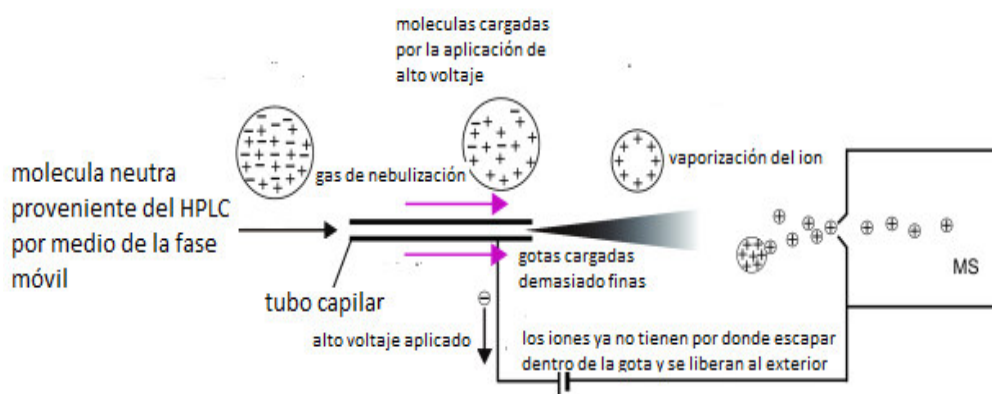
Estructura de los iones moleculares de carbamatos (a) Carbofurano, (b) Aldicarb



Nota: (a) Ión de Carbofurano, (b) Ión de Aldicarb

Figura7

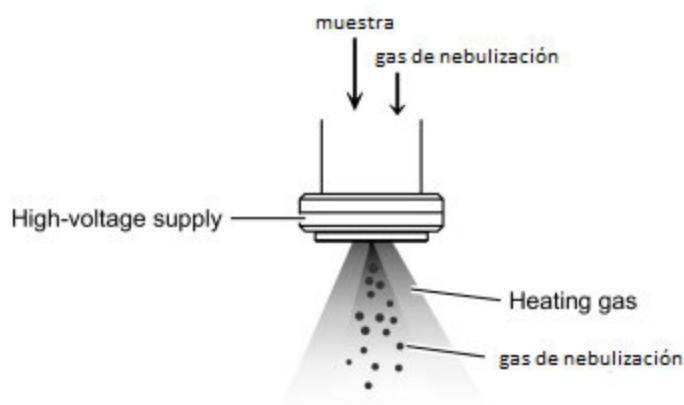
Esquema de difusión de iones por la fuente ESI



Nota. Fuente: Ion Focus. Shimadzu. Abril 2020.

Figura8

Posiciones del gas de nebulización y Heating Gas, posición de la fuente eléctrica que genera el High Voltage Supply.



Nota. Fuente: Ion Focus. Shimadzu. Abril 2020.

Los iones desolvatados serán focalizados por campos eléctricos generados por el Q-array-Skimmer y los multipolos, estas partes son los que conforman la lente que focaliza los iones en el espectrómetro (Shimadzu-2020), luego pasan al primer cuadrupolo, El primer cuadrupolo Q1 al igual que el segundo cuadrupolo Q3, tienen como estructura 4 barras opuestas se conectan eléctricamente, un par al polo positivo de una corriente continua y el otro par al polo negativo. Además, se aplican a cada par de barras potenciales variables de corriente alterna de radiofrecuencia, que están desfasados 180 grados. Son barras cilíndricas de 6 mm de diámetro y 15 cm de longitud. Construidos con precisión que proporcionan una buena estabilidad mecánica, aunque cambie la temperatura. (Ver figura 9) Los potenciales de las corrientes continua y

alterna (Ver Ecuaciones [12] y [13]) ejercen un efecto en la trayectoria de los iones que pasan a través de los cuadrupolos (Gomis, V.-2008):

$$\varphi(x, y, z) = \frac{\varphi_0(x^2 - y^2)}{r_0^2} \quad [12]$$

$$\text{Siendo: } \varphi_0 = U + V \cos \omega t \quad [13]$$

Las ecuaciones diferenciales correspondientes a la fuerza ejercida sobre el ion de carga e y su paso a través de los cuadrupolos, reemplazando la ecuación [13] en [12] y derivando [12] son las siguientes:

$$dFx = -e \frac{d\varphi}{dx} = -e \frac{(U+V \cos \omega t)(2x)}{r_0^2} \quad [14]$$

$$dFy = -e \frac{d\varphi}{dy} = e \frac{(U+V \cos \omega t)(2y)}{r_0^2} \quad [15]$$

Relacionando la masa del ion con su aceleración:

$$dF(x, y) = m \frac{d^2(x, y)}{dt^2} \quad [16]$$

Reemplazando en las ecuaciones [14] y [15] en [16]:

$$0 = \frac{d^2x}{dt^2} + e \frac{(U+V \cos \omega t)(2x)}{mr_0^2} \quad [17]$$

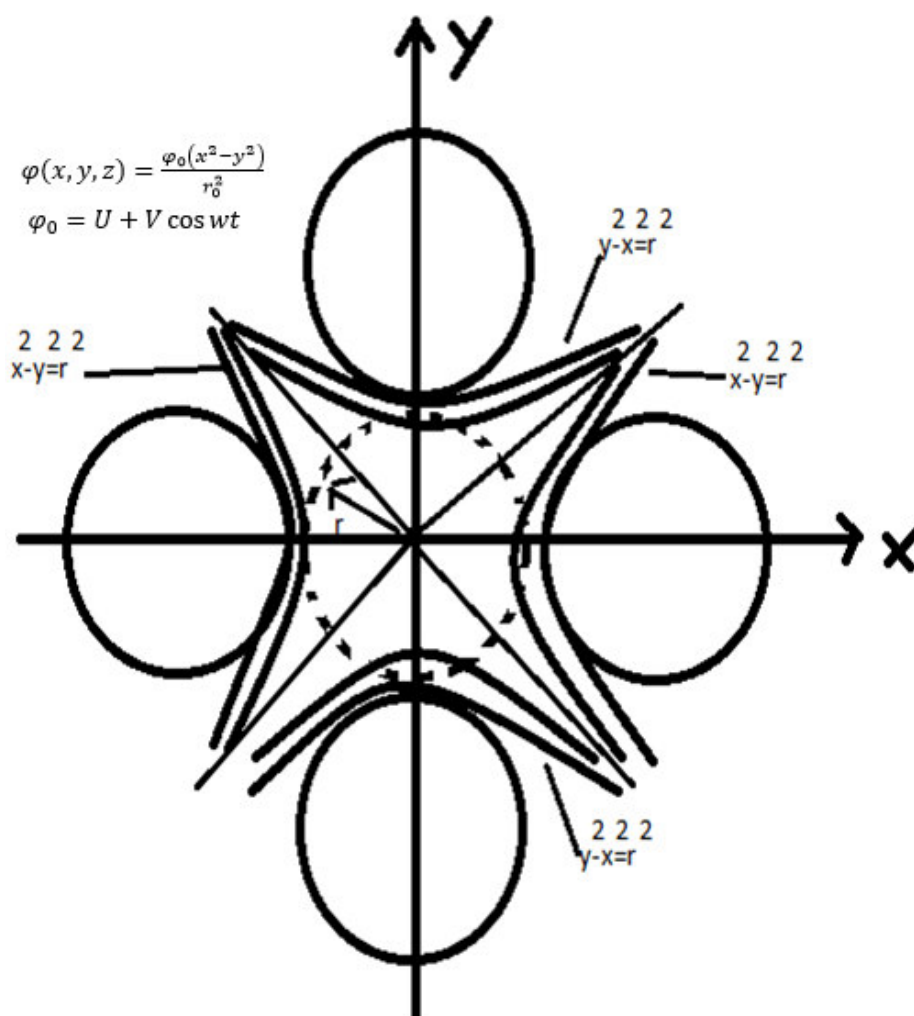
$$0 = \frac{d^2y}{dt^2} - e \frac{(U+V \cos \omega t)(2y)}{mr_0^2} \quad [18]$$

Con estas ecuaciones podemos describir el movimiento del ion a través de los cuadrupolos. (García, M.-2011)

Los cuadrupolos sirven como filtro de los iones de pequeño rango de m/z , los otros iones son neutralizados y eliminados, estos iones son transportados a través del cuadrupolo por medio de campos eléctricos.

Figura9

Estructura de un cuadrupolo como filtro de los iones que serán leídos por el detector de masas.



Después de pasar por el primer cuadrupolo Q1 el ión entra a la celda de colisión Q2, es la parte del espectrómetro masas donde el ión precursor es fragmentado por los átomos del gas Argón, y transportados por un campo electromagnético luego se van al segundo cuadrupolo Q3 para ser analizados finalmente. (Egea, J. -2009)

Las moléculas de carbamatos como aldicarb luego de ser ionizadas, son transportadas por el Q1 y van al Q2 para ser fragmentadas a las masas (m/z): 116 (Ver Fig. 11) y (m/z): 89 (Ver Fig.12).

Las moléculas de carbamatos como carbofurano luego de ser ionizadas, son transportadas por el Q1 y van al Q2 para ser fragmentadas a las masas (m/z): 165.0 (Ver Fig. 13) y (m/z): 122.8 (Ver Fig. 14).

El recorrido general del ion a través del espectrómetro y las partes del espectrómetro, es resumido según la Fig. 10

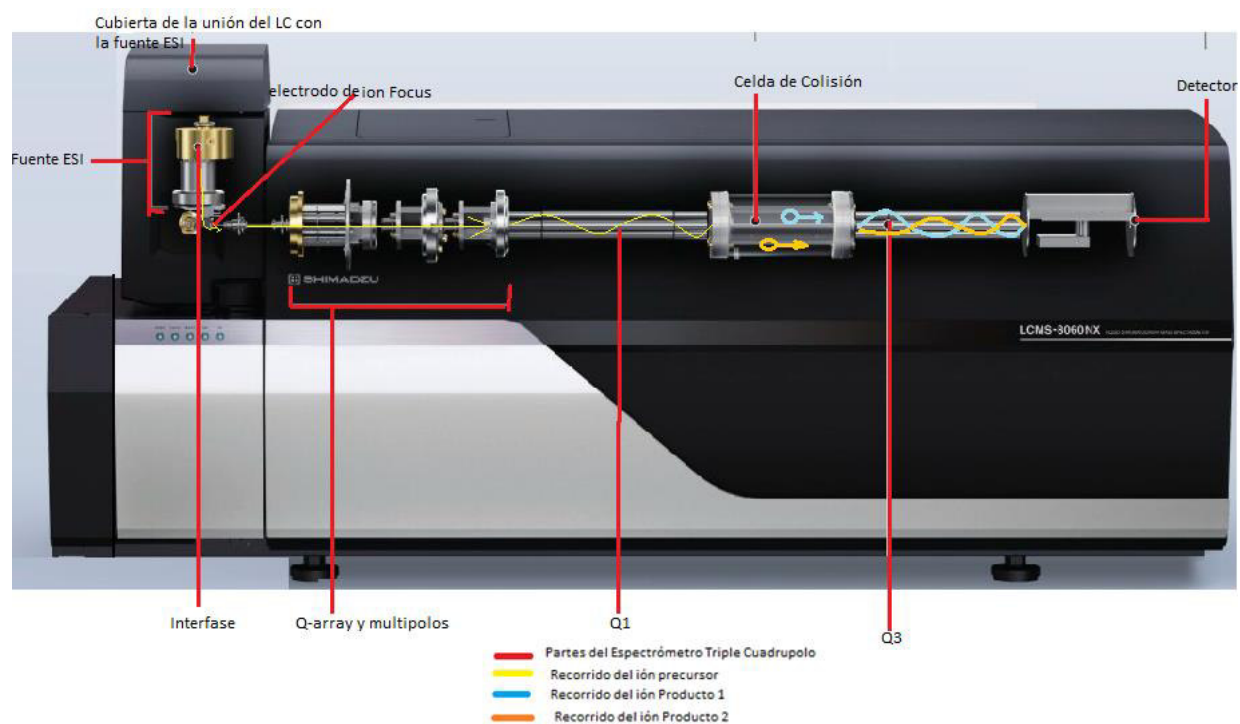
Las rápidas separaciones de un LC-MS/MS permiten el alto rendimiento de los analitos de interés, con una elución ante de 7,5 minutos teniendo un total de tiempo de corrida de 15 minutos por muestra, estando el sistema con carga habilitado para que la muestra siguiente esté disponible para inyectar inmediatamente después de la corrida de la muestra anterior, lo que ayuda a optimizar la eficiencia del equipo, lo cual facilita el análisis de 4 muestras en una hora aproximadamente, teniendo mayor cantidad de muestras analizadas a lo largo de una noche.

Con este método se puede determinar concentraciones tan bajas que permite medir las verdaderas concentraciones sin la intervención del efecto matriz, pudiendo cuantificar con áreas que se pueden diferenciar los carbamatos con algún otro contaminante presente en la muestra,

mediante un filtro de masas, dando mayor confianza en los resultados obtenidos.

Figura10

Recorrido del ión a través del Espectrómetro Masas triple Cuadrupolo



Nota. Fuente: Modificado de Shimadzu, Liquid Chromatograph Mass Spectrometer LC MS 8060 NX, UFMS.

Ejemplos de ionizaciones en detector MS/MS

Figura11

Formación del fragmento del aldicarb m/z : 116

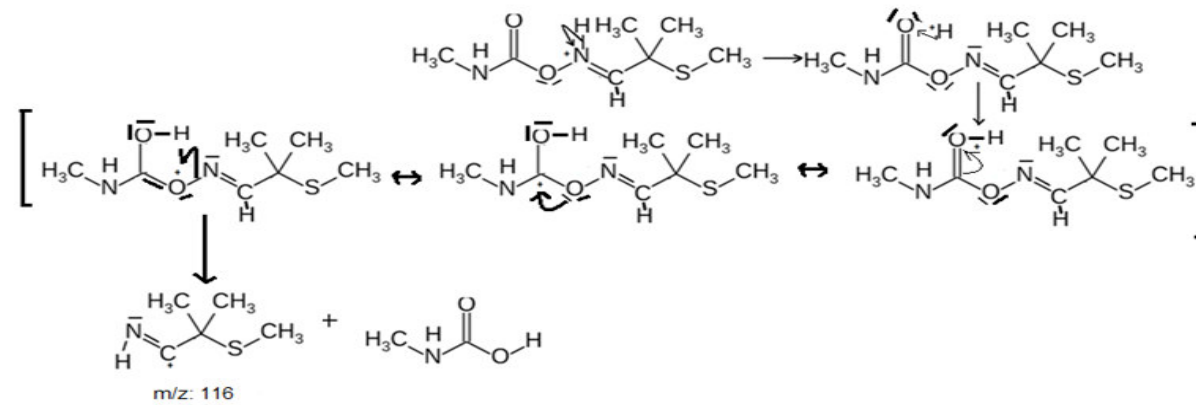


Figura12

Formación del fragmento del aldicarb m/z 89

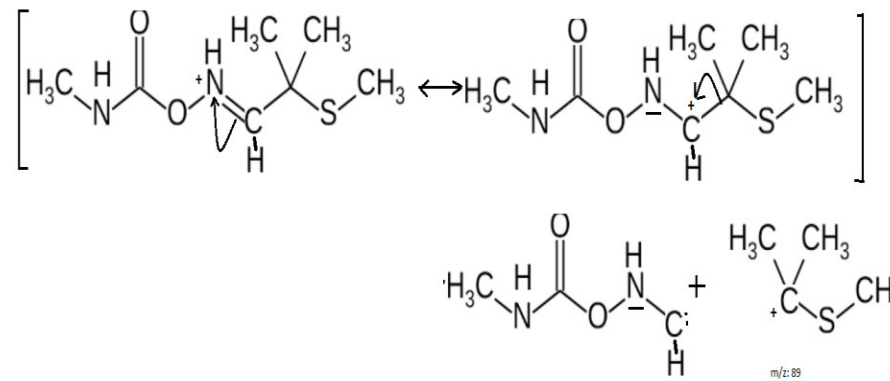
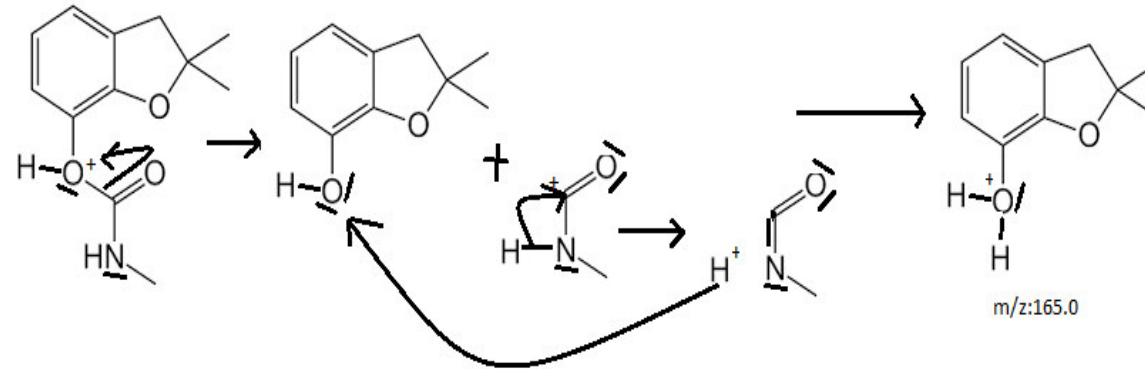
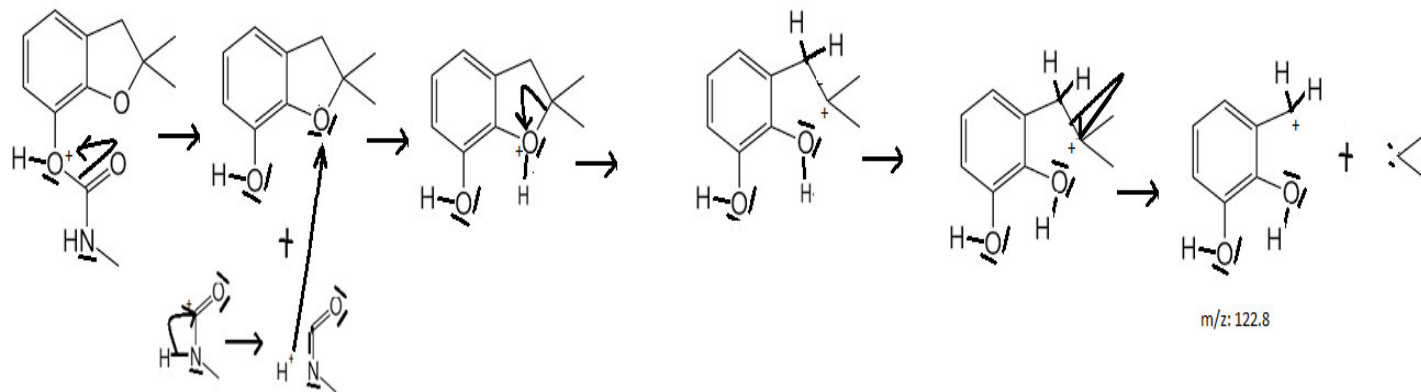


Figura13

Formación del fragmento del carbofurano m/z : 165.0

**Figura14**

Formación del fragmento del carbofurano m/z : 122



2.3.2 Validación del método de ensayo

La validación es un proceso que establece requisitos a un método de ensayo el cual bajo ciertas condiciones han desarrollado capacidades consistentes que pueden cumplir con la aplicación requerida. Mediante estudios sistemáticos la validación establece ciertas características del método en estudio que cumple con las especificaciones establecidas para el uso previsto de los resultados analíticos.

Según la directriz de métodos de ensayo de INACAL se usa la validación de métodos a aquellos métodos: (INACAL-2017)

- Métodos No normalizados. (Métodos de ensayo desarrollados por un laboratorio, publicados en revistas o artículos, sugeridos por alguna compañía de venta de equipos).
- Métodos normalizados, (Métodos de ensayo desarrollados por un ente de normalización reconocido, también por entidades reconocidas a nivel nacional e internacional como: INDECOPI, ASTM, ISO, etc.) que han tenido modificaciones en el proceso de ensayo, o se ha ampliado el alcance del que originalmente fue establecido en la norma.
- Demostrar equivalencia entre dos métodos de ensayo cuando sea requerido.

En la validación de un método se sigue con el siguiente plan:

- Definir el alcance del método y los documentos o las normas de origen, mostrando las partes donde fue modificado dicho método.
- Definir los parámetros de validación y criterios que acepten dichos parámetros. (INACAL-2017)

- Establecer todos los materiales que permitan el buen desarrollo del método: Muestras, reactivos, blanco matriz, material certificados, material control, materiales de referencia certificados, matrices de las muestras, muestras sin adición estándar, muestras con adición estándar, etc.
- Materiales, reactivos y equipos para la validación.
- Fecha para el desarrollo de la validación. (Instituto de Salud Pública-2010)

Según la ISO 17025 el laboratorio deberá validar los métodos estándar que pretenden abarcar otras matrices; así como las modificaciones y ampliaciones, afirmando que estos métodos son los apropiados para el análisis. De igual forma, se debe registrar tanto los resultados obtenidos, como el procedimiento de la validación y luego presentar una declaración, certificando que el método es el adecuado. (ISO/IEC 17025:2005)

Hay veces que el efecto matriz no es tomado en cuenta con respecto a la validación de los métodos porque no influyen en la linealidad o reproducción del ensayo, sin embargo, hay casos en los cuales el efecto matriz puede interferir considerablemente en la eficacia de la ionización, entonces debe evaluarse estos aspectos antes de la validación, en donde la eficiencia cromatográfica dependerá de la severidad del efecto matriz. Es por ello por lo que el efecto matriz y la cromatografía deben tener la información necesaria para la validación del método y la transferencia de este a otros espectrofotómetros. (Rogatsky E. y Stein D.-2005)

La veracidad y la precisión lo vemos mediante el uso de estándar de calibración externo en solvente, estándar de calibración combinada con matriz y la fortificación con un estándar interno. (Zrostlíková, J. *et al*-2002)

2.3.2.1 Principios de la validación de métodos

- **Especificación de la Validación**

La validación se aplica a un método que fue creado para la identificación y cuantificación de un analito específico y con ciertas características propias del método como el rango de concentraciones de dicho analito en un tipo de matriz, utilizado para un propósito específico. Por lo tanto, la validación debería verificar que el método es el adecuado para el análisis de otros analitos en todo el rango de sus concentraciones, y aplicado a diferentes matrices. (Thompson, M. *et al*.-2002)

- **La prueba de los supuestos**

La validación es una prueba objetiva a cualquier suposición que se deduce de un método analítico.

Ejemplo: Los resultados calculados a partir de una curva de calibración suponen que no hay sesgo en el análisis, siendo el resultado proporcional a la respuesta del equipo, en la experiencia acumulada en el equipo obtenida a largo plazo hacen este resultado confiable. Sin embargo, una buena medición se basa en hipótesis probadas, siendo un estudio basado en hipótesis estadísticas proporcionando un control básico de que las suposiciones no tienen defectos significativos. (Thompson, M. *et al*.-2002)

- **Fuentes de error en el análisis**

El error puede estar comprendido en el sesgo del método, el sesgo de laboratorio, el sesgo de ejecución y la variación de la repetibilidad, junto con la variabilidad de la matriz. (Thompson, M.-2000)

2.3.2.2 Parámetros de validación de métodos

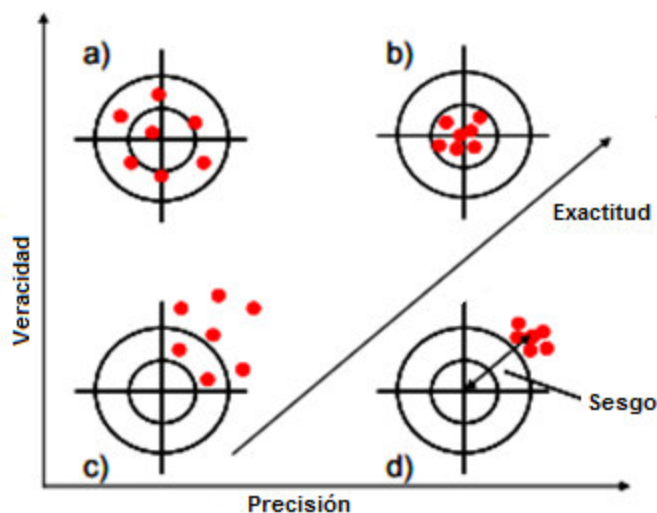
Los parámetros de validación son descritos a continuación, varias opiniones pueden variar en la terminología de estos términos, en esta sección se define cada uno de estos a detalle, la validación puede usar algunos o todos estos parámetros que son los siguientes: (USP 40 – NF 35-2009)

- **Exactitud**

Según el VIM (Vocabulario internacional de metrología) la exactitud abarca el concepto de veracidad y precisión, la exactitud no puede dar resultados numéricos pero en la medida de resultados podemos realizar la medida de los errores y el cálculo de la incertidumbre (Barwick V. y Prichard E.-2011), los errores que afectan la exactitud son los errores sistemáticos (aquellos que afectan la veracidad) y los aleatorios (aquellos que afectan la precisión). Fig.15. (España J.-2013)

Figura15

Ejemplos de veracidad y precisión



Nota. a) Veraz-No preciso b) Veraz y preciso c) No veraz-No preciso d) No veraz- preciso.

Precisión

Es el grado de dispersión de una serie de resultados obtenidos a partir de múltiples muestras provenientes de una muestra homogénea. (Huber L.-2009) La ecuación de Horwitz con el valor de Horrat, que depende de los estudios dentro del laboratorio. (Horwitz, W.-2000)

$$\%RSD = 2C^{-0.1505} \quad [19]$$

La ecuación [19] puede expresarse en la siguiente ecuación: (Rivera, C. y Rodríguez R.-2014)

$$\%RSD = 2^{1-0.5\log C} \quad [20]$$

En este trabajo consideramos su repetibilidad porque se obtienen resultados del mismo método de análisis y en el mismo laboratorio, a intervalos de corto tiempo por el mismo usuario, usando la siguiente modificación de [20]:

$$\%RSD = 0.5x2^{1-0.5\log C} \quad [21]$$

Siendo C la concentración de los analitos de interés.

Veracidad

Según el VIM es la proximidad del promedio de un conjunto de datos repetidos al valor de referencia. (Barwick V. *et al.*-2014) Para describir la calidad de los resultados es necesario el cálculo de los errores sistemáticos, los errores aleatorios, la incertidumbre. (AOAC International -2015)

Los errores sistemáticos son aquellos que afectan la veracidad como el sesgo b, puede ser calculado de la siguiente manera:

$$b = \bar{x} - x_{ref} \quad [22]$$

Y la recuperación de los resultados:

$$\%R = \frac{\bar{x}}{x_{ref}} \cdot 100 \quad [23]$$

Para verificar que el efecto matriz no afecta en la veracidad del resultado, se procede a fortificar la muestra con una concentración conocida del analito y evaluar su recuperación de la siguiente manera: (Rowley A.-2001)

$$\%R = \frac{C_f - C_m}{C_A} \cdot 100 \quad [24]$$

Siendo C_f la concentración de la muestra fortificada, C_m concentración de la muestra sin fortificar y C_A concentración de adición.

- **Incertidumbre (U)**

La medición de la incertidumbre U se aplica para aumentar la calidad del resultado obtenido y el procedimiento analítico usado, siendo la incertidumbre U expandida el nivel de confianza de un resultado, en el laboratorio el nivel de confianza es 95%, para su cálculo: (Peris J., *et al.*-2013)

$$U = 2 * \sqrt{u_1^2 + u_2^2 + u_3^2} \quad [25]$$

Siendo u_1^2 , u_2^2 y u_3^2 las incertidumbres combinadas, las cuales el radical de sus suma es la incertidumbre global, los cofactores individuales intervienen en las incertidumbres combinadas.

- **Selectividad/Especificidad**

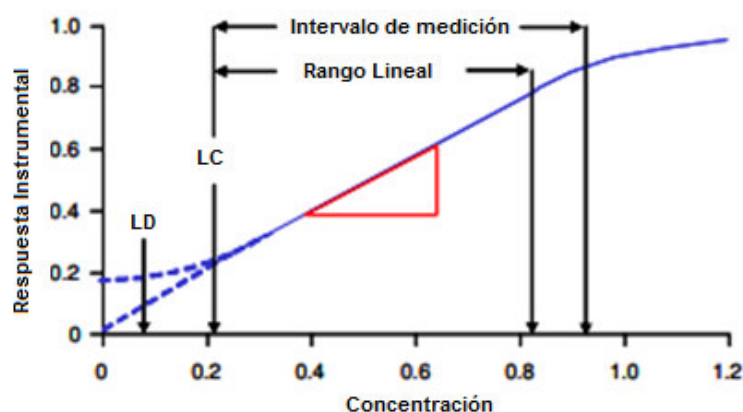
Depende del objetivo analítico, realizando pruebas de identificación de las impurezas y los procedimientos realizados para la extracción del analito discriminando los otros componentes de la muestra. Si no se llegase a demostrar la especificidad y la selectividad, entonces se recurre a la combinación de métodos analíticos que puedan lograr la especificidad y la selectividad del método. (ICH-2005)

- **Rango (Intervalo de trabajo)**

Es el intervalo de la concentración del analito que se mide con la incertidumbre específica del método, el límite inferior de este rango es por lo general es el LC, se demuestra en el método que el límite inferior y el límite superior son los idóneos para la medición de la concentración de analito en la muestra, en donde se garantiza la medición con su precisión y veracidad, sin embargo si la concentración de la muestra excede la cantidad de analito se procede a las diluciones. (QCC-2014)

Figura16

Rango de trabajo, definido por su límite superior y su límite inferior (El cual podría ser el límite de cuantificación)



Nota. Fuente Guidelines for the single laboratory Validation of Instrumental and Human Based Methods in Forensic Science. (2014).

- **Linealidad**

La relación entre la concentración del analito y la respuesta del equipo debe ser evaluado en un rango de trabajo como se mencionó anteriormente, estando las soluciones estándar en la misma solución y en las mismas condiciones que las muestras, preparando concentraciones conocidas del analito teniendo un rango ideal, que está entre el límite de cuantificación y el límite superior, antes de empezar la validación. (European Medicine Agency-2011) Para calcular los parámetros de la ecuación de la recta $y = a + bx$: (Almeida, A., *et al.*-2002)

$$a = \frac{\sum w_i x_i^2 \cdot \sum w_i y_i - \sum w_i x_i \cdot \sum w_i x_i y_i}{\sum w_i \sum w_i x_i^2 - (\sum w_i x_i)^2} \quad [26]$$

$$b = \frac{\sum w_i \cdot \sum w_i x_i y_i - \sum w_i x_i \cdot \sum w_i y_i}{\sum w_i \cdot \sum w_i x_i^2 - (\sum w_i x_i)^2} \quad [27]$$

Para asegurar su linealidad se procede a calcular el parámetro r:

$$r = \frac{\sum w_i \cdot \sum w_i x_i y_i - \sum w_i x_i \cdot \sum w_i y_i}{\sqrt{\sum w_i \cdot \sum w_i x_i^2 - (\sum w_i x_i)^2} \cdot \sqrt{\sum w_i \cdot \sum w_i y_i^2 - (\sum w_i y_i)^2}} \quad [28]$$

Mientras el valor r sea más cercano a 1, tendrá buena linealidad. (Almeida, A., et al.-2002)

- **Límite de detección (LD) y Cuantificación (LC)**

Estos parámetros están relacionados entre sí, pero cada uno de ellos tienen una definición diferente, la intención es detectar la concentración mínima del analito de interés sin garantía de sesgo y precisión y finalmente la concentración en la cual el analito puede ser cuantificado de manera lineal, el LD es la mínima cantidad de concentración del analito en una muestra que se puede detectar pero no necesariamente cuantificable y el LC es la mínima cantidad de concentración del analito en una muestra que se puede detectar con una precisión y veracidad confiable. (Shrivastava, A., y Gupta, V.-2011)

$$\frac{LD}{LC} = \frac{F \cdot \sigma}{b} \quad [29]$$

Siendo F: factor de 3.3 para LD y 10 para LC, b es la pendiente y σ la desviación estándar.

En el caso de cromatografía la señal ruido (SN) se miden los picos que estén cerca al tiempo de retención del pico del analito, imprimiendo el cromatograma y midiéndolo manualmente o por la integración del mismo equipo, el cual permite estimar el LD con la SN de tres (3.1) y para estimar el LC se usa la SN de diez (10.1), (Ver Fig. 17) este método es usado para cromatografías en donde el cromatograma muestra señal ruido en su línea base, el nivel que se requiere para determinar la detección es con un

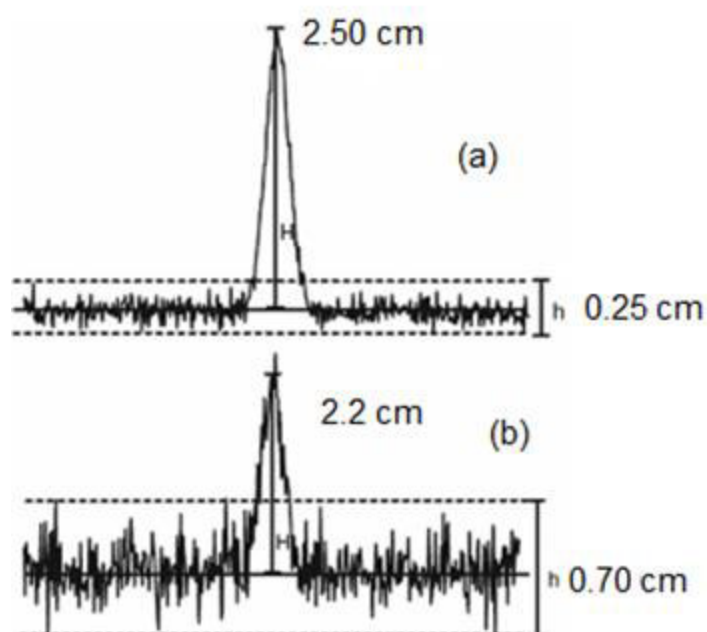
ancho de 20 veces el ancho del pico de altura media, se calcula la señal ruido de la siguiente manera: (Rahman H. y Rahman M. -2015)

$$SN = \frac{2H}{h} \quad [30]$$

Siendo: H: la altura del pico del analito y h la altura media de los picos de la línea base. (Rahman H. y Rahman M. -2015)

Figura17

(a) SN: 10:1 requisito para el LC, (b) SN: 3:1 requisito para el LD.



Nota. Fuente: Rahman H., y Rahman M. (2015). Estimation of Limit of Detection (LOD), Limit of Quantification (LOQ) and Machine Standardization by Gas Chromatography

Regresión Lineal

De la ecuación de la recta expresada anteriormente en linealidad en donde a, b, LD y LC están relacionados de la siguiente manera: (Rahman H. y Rahman M. -2015)

$$LD = \frac{3.\sigma_a}{b} \quad [31]$$

$$LC = \frac{10.\sigma_a}{b} \quad [32]$$

- **Sensibilidad**

Es el cambio de la respuesta del equipo, correspondiente a un cambio en la cantidad medida causada por la gradiente de la curva de respuesta. (VIM-2008)

- **Robustez**

Es la capacidad de reproducir el método en otro laboratorio a diferentes condiciones, en donde el método no se verá afectado por pequeñas pero deliberadas variaciones en los parámetros, indicando su fiabilidad durante un uso normal, los parámetros que pueden ser considerados son: el pH de la fase móvil, la temperatura del horno de la columna, el gradiente de elusión, el flujo de la fase móvil, el volumen de inyección de muestra, etc. (Vander Y., *et al.*-2001), se recomienda hacer la robustez en el lugar apropiado dentro de la validación y no al final como por ejemplo antes de los ajustes de los parámetros experimentales, una validación de un método poco robusto ocasiona la poca eficiencia de los resultados obtenidos en las pruebas de rutina, se debe de proporcionar un grado de flexibilidad al método, para poder apoyar alguna modificación de varios parámetros experimentales si es necesario. (Peris J., *et al.*-2015)

La evaluación es un análisis exhaustivo del método en donde identificamos los factores que tengan mayor variabilidad y una influencia considerable en el resultado final como por ejemplo en HPLC los más recurrentes son el tiempo y volumen de extracción, volumen muestreado, pH, temperatura, flujo, volumen de inyección, composición de fase móvil, condiciones de detector, etc.

CAPÍTULO 3: METODOLOGÍA

3.1 Solución a los problemas formulados

3.1.1 Diseño del experimento

Se desarrolló el nuevo método de ensayo basado en trabajos anteriores como se mencionan en el capítulo 2, subtítulo 2.2 Antecedentes, en donde se pesó la muestra previamente monitoreada, según los reglamentos del MINAM, $\pm 2,0000$ g de muestra, luego se agregó 10 ml agua ya que los carbamatos como el aldicarb y carbofurano son de polaridad alta y pueden disolverse en el agua fácilmente, para luego hacer la extracción con acetonitrilo, con agitación y sales de extracción 4g de $MgSO_4$ el cual retiene el agua y ayuda a mantener al analito en la parte orgánica (acetonitrilo), 1g de NaCl el cual ayuda a separar las fases del contenido de agua y acetonitrilo, 1g de citrato de sodio dihidratado, 0,5 g de hidrogencitrato de sodio sesquihidratado, las cuales ayudan al ajuste de pH 5,5 que es el adecuado para extraer los componentes ácidos y básicos de la muestra. Luego centrifugar las muestras.

Para el Clean-up, se tomó una alícuota de la parte orgánica del extracto (acetonitrilo), y verterlo en el cartucho con las sales de Clean-up, las cuales contienen $MgSO_4$ que elimina los restos de agua presentes en el extracto, y la amina primaria y secundaria PSA el cual elimina los componentes orgánicos o interferentes orgánicos presente en la muestra, es por ello que se recomienda hacer este procedimiento el breve tiempo posible para no eliminar o dañar los analitos que puedan estar presentes en la muestra, se agitó y centrifugó la muestra para luego ser filtrada por un filtro de jeringa de 22 μm a un vial de 5mL, luego se tomó una alícuota de 1000 μL y se llevó a un vial de 1,5 mL, se añadió 10 μL de HCOOH al 5%, listo para ser leído en el LC MS/MS, este método tiene una recuperación en sus muestras fortificadas

desde el 70 al 120 %. Teniendo esta metodología de extracción se une con un análisis cromatográfico en un UHPLC acoplado a un detector masas triple cuádruplo (ver Anexos), el cual ayudó con la identificación de los compuestos de interés, se trabajó con un volumen de inyección de 0,5 μL , una fase móvil compuesta de una fase móvil A: agua grado LC-MS/MS 90% / metanol grado LC-MS/MS 10% / 1mL COONH_4 5M), y una fase móvil B: metanol grado LC-MS/MS 90% / agua grado LC-MS/MS 10% / 1 mL COONH_4 5M), la fase estacionaria es una columna Phenomenex Synergi 2,5 μm Fusion-RP (50mm x 2,00mm x 2,5 μm) con 40°C de horno de columna, teniendo una buena separación cromatográfica de los componentes con la siguiente gradiente (Fig. 18):

Figura18

Mezcla gradiente de las fases móviles A y B

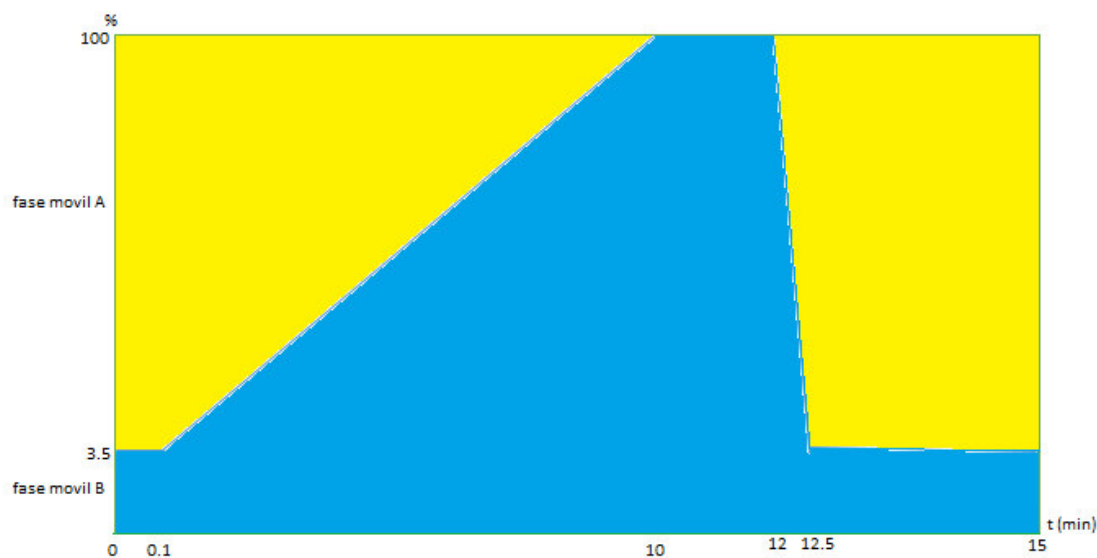


Tabla 3

Variación de porcentaje de mezcla de las fases móviles A y B con flujo de 0.4 mL/min

Tiempo de corrida	% Fase móvil A	% Fase móvil B
0,0	96,5	3,5
0,1	96,5	3,5
10,0	0,0	100
12,0	0,0	100
12,5	96,5	3,5
15,0	96,5	3,5

El diseño del experimento desde el muestreo de suelos hasta el tratamiento de laboratorio se puede apreciar en los siguientes diagramas de flujo: (Fig. 19, 20, 21 y 22)

Las condiciones de análisis en el espectrómetro de masas, se tomaron en cuenta las siguientes condiciones:

- **Tiempo Dwell:** Es el intervalo de tiempo, que cuantifica el número de puntos necesarios para la formación de picos de cada ión, ayudando a tener la mejor forma gaussiana posible de cada analito, se tiene el criterio: el número de puntos es inversamente proporcional al tiempo Dwell.
- **Q1 y Q3 Pre Bias (V):** Es el potencial que usa el pre filtro de cada cuadrupolo para seleccionar el ión molecular de interés.
- **Energía de Colisión (EC):** Es la energía que se emplea en la celda de colisión para fragmentar el ión molecular de interés.

Ejemplos de Condiciones de Análisis en el Espectrómetro de Masas según el analito:

- **Aldicarb m/z = 116,0:**

- ✓ Tiempo Dwell : 5,0 mseg para todos sus fragmentos
- ✓ Q1 Pre Bias m/z=88,9 : -24,0 V
- ✓ Q1 Pre Bias m/z=61,1 : -23,0 V
- ✓ Q3 Pre Bias m/z=88,9 : -17,0 V
- ✓ Q3 Pre Bias m/z=61,1 : -25,0 V
- ✓ CE m/z=88,9 : -12,0
- ✓ CE m/z=61,1 : -13,0

- **Aldicarb Sulfona m/z = 240,1:**

- ✓ Tiempo Dwell : 5,0 mseg para todos sus fragmentos
- ✓ Q1 Pre Bias m/z=148,15 : -28,0 V
- ✓ Q1 Pre Bias m/z=86,2 : -28,0 V
- ✓ Q3 Pre Bias m/z=148,15 : -32,0 V
- ✓ Q3 Pre Bias m/z=86,2 : -32,0 V
- ✓ CE m/z=148,15 : -14,0
- ✓ CE m/z=86,2 : -21,0

- **Aldicarb Sulfóxido m/z = 207,1:**

- ✓ Tiempo Dwell : 5,0 mseg para todos sus fragmentos
- ✓ Q1 Pre Bias m/z=89,1 : -13,0 V
- ✓ Q1 Pre Bias m/z=132,25 : -14,0 V
- ✓ Q3 Pre Bias m/z=89,1 : -18,0 V
- ✓ Q3 Pre Bias m/z=132,25 : -27,0 V
- ✓ CE m/z=89,1 : -13,0

✓ CE m/z=132,25 : -9,0

• **Carbofurano m/z = 222,1:**

✓ Tiempo Dwell : 5,0 mseg para todos sus fragmentos

✓ Q1 Pre Bias m/z=165,0 : -16,0 V

✓ Q1 Pre Bias m/z=77,15 : -23,0 V

✓ Q3 Pre Bias m/z=165,0 : -33,0 V

✓ Q3 Pre Bias m/z=77,15 : -31,0 V

✓ CE m/z=165,0 : -14,0

✓ CE m/z=77,15 : -42,0

• **Carbofurano-3-OH m/z = 255,0:**

✓ Tiempo Dwell : 5,0 mseg para todos sus fragmentos

✓ Q1 Pre Bias m/z=163,05 : -23,0 V

✓ Q1 Pre Bias m/z=220,05 : -23,0 V

✓ Q3 Pre Bias m/z=163,05 : -29,0 V

✓ Q3 Pre Bias m/z=220,05 : -18,0 V

✓ CE m/z=163,05 : -34,0

✓ CE m/z=220,05 : -15,0

Figura 19

Diagrama de Flujo de muestreo en suelos

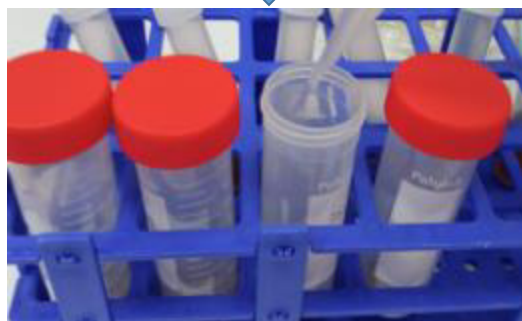


Figura 20

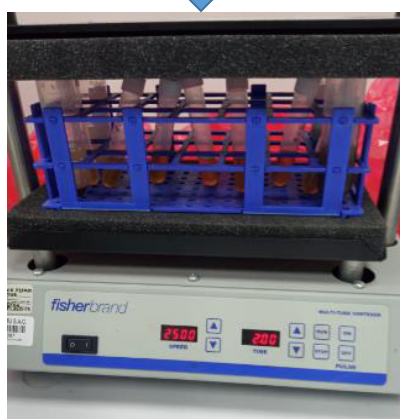
Diagrama de flujo de la extracción de carbamatos de la muestra de suelos (1).



Pesar ± 2 g de muestra



adicionar 10 mL de agua

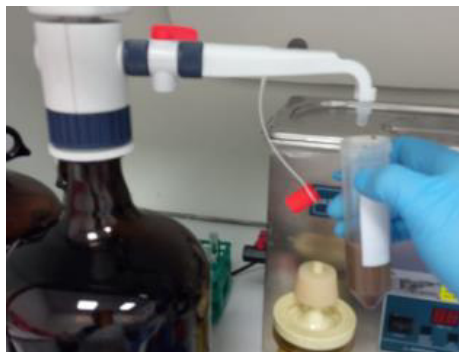


Agitar por 2 minutos

Nota. Fuente: Modificado de la UNE-EN-15662-2019

Figura 21

Diagrama de flujo de la extracción de carbamatos de la muestra de suelos (2).



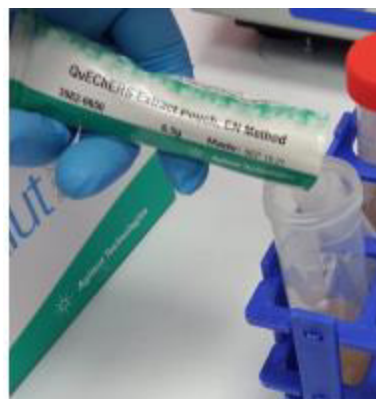
Agregar 10mL de Acetonitrilo



Agitar por 2 minutos



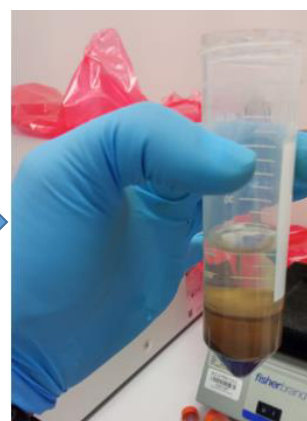
Agitar por 2 minutos



Adicionar las sales de extracción



centrifugar por 5 minutos



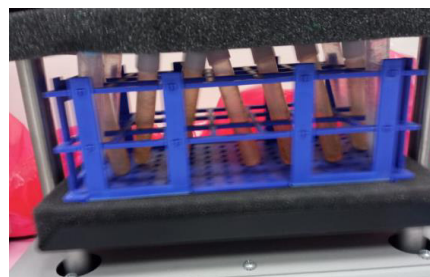
Solución centrifugada

Figura 22

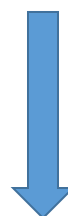
Diagrama de flujo de la extracción de carbamatos de la muestra de suelos (3).



tomar 6mL de alícuota y llevarlo al Clean Up



agitar por 1 minuto



Filtrar el extracto final



centrifugar



Tomar 1mL de alícuota del extracto filtrado y adicionar 10 μ L de HCOOH al 5%

Nota. Fuente: Modificado de la UNE-EN-15662-2019

3.1.2 Tratamiento estadístico de los datos obtenidos

Se diluyó las soluciones stock de los estándares de aldicarb, carbofurano y metabolitos en diferentes concentraciones aforando con el extracto de un suelo blanco el cual es extraído como se indica en la Fig. 20, 21 y 22, se generaron los puntos para la curva de calibración y poder cuantificar la concentración de estos carbamatos presentes en los suelos, en la presente tesis se usó diferentes suelos agrícolas provenientes de las ciudades de Piura, Ica y Huancayo, identificando a cada una con los códigos s-p, s-i y s-h respectivamente.

Definir el rango de trabajo y la linealidad de curva de calibración con un $r \geq 0,99$ (Figuras 23-37).

Con las muestras fortificadas, se procedió a adicionarle las soluciones stock de los estándares de carbamatos, lo equivalente a 100 ng/mL, y se verificó la recuperación.

Se realizó una repetición de 10 veces cada día, realizando la misma labor en 3 días diferentes, se determinó la precisión y la veracidad. Para determinar la sensibilidad del método se tomó en cuenta las pendientes de las curvas. Se calculó la desviación estándar de las 10 repeticiones por día, obteniendo de manera teórica los límites de detección y cuantificación según las ecuaciones [31] y [32], luego se corrió una muestra fortificada con el valor obtenido del cálculo de los límites de detección y cuantificación, y se relacionó el tamaño del pico del analito con la altura de las señales ruido de 3:1 y así poder establecer el límite de detección correcto para el método y por consiguiente el límite de cuantificación, Finalmente para la selectividad, se verificó que en los cromatogramas no haya algún compuesto que interfiera con los analitos de interés, y con la ayuda del software del equipo, se pudo filtrar los cromatogramas, según la masa de los iones producto, luego de ello se estimó la incertidumbre generada por todos los factores que influyen en el resultado.

Tabla 4*Plan de validación del método*

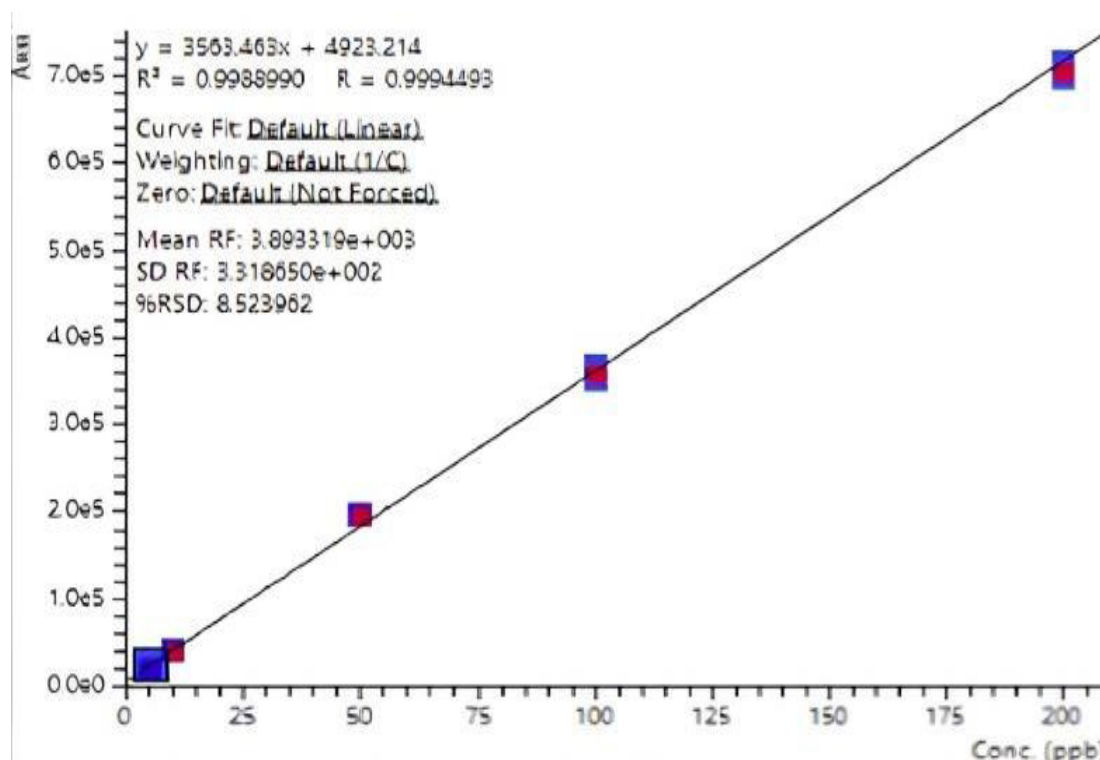
Parámetros	Procedimientos
Linealidad	La linealidad en el rango de trabajo de 5ppb hasta 200ppb, debe tener un $r^2 \leq 0,99$ (EURL-2013) ó $r^2 \leq 0,995$ (EPA-2012)
Exactitud (precisión + veracidad)	Adición estándar a las muestras 10 veces, 3 días diferentes, medir precisión de las repeticiones con el minitab haciendo diagrama de cajas, y la veracidad con el porcentaje de recuperación de las fortificaciones del 70 al 120%. (EURL-2021)
Límites de detección y cuantificación	Cálculo teórico de los LD y la comprobación de estos, con las fortificaciones que den el valor del LD calculado, estableciendo el LD experimental, y por consiguiente el LC.
Sensibilidad	La respuesta, la pendiente, mientras más altas sean , mayor será la sensibilidad
Selectividad	El Clean up, debe extraer los analitos deseados, discriminando los compuestos propios de la muestra, y el equipo LC-MS/MS, debe filtrar los cromatogramas por la masa de los compuestos, la función de focalizar iones por los electrodos Ion Focus.
Incertidumbre	Aplicar la ecuación [25] y estimar la incertidumbre expandida con los factores empleados para la obtención del resultado

3.1.2.1 Linealidad del método

Aldicarb Día 1

Figura 23

Curva de Calibración de Aldicarb día 1



Nota. Los puntos rojos son el promedio de las áreas obtenidas (puntos azules) por la repetición de cada punto de curva. Curva obtenida del Software de cuantificación LabSolutions Insight LCMS

tabla 5.

Medición del área del pico de Aldicarb a diferentes concentraciones día 1

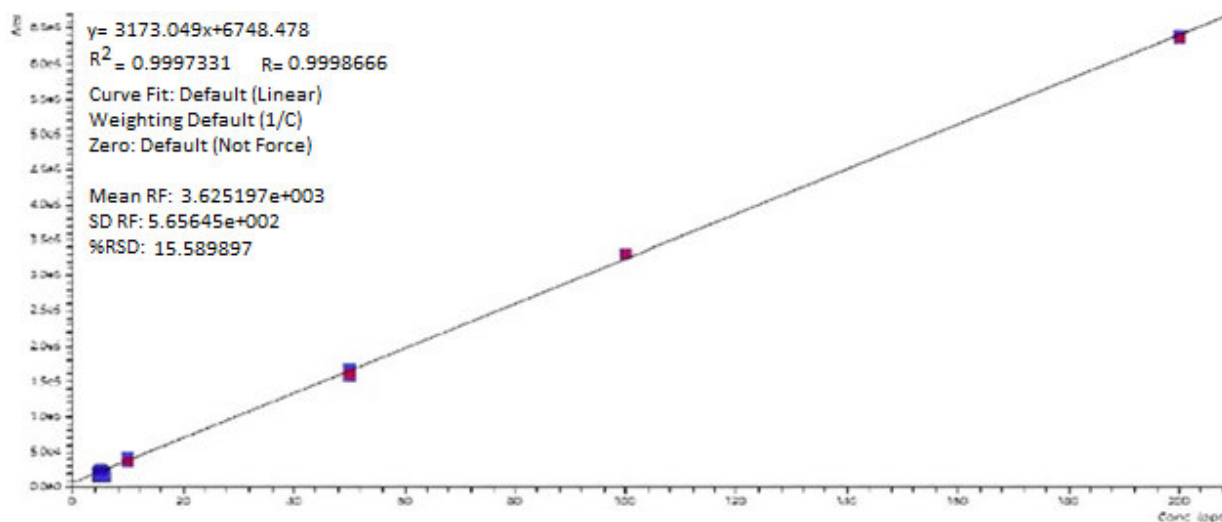
Concentración (ng/mL)	Área 1	Área 2
5	24947	18284
10	38491	43387
50	194298	197289
100	369304	350327
200	716430	697803

Nota. Puntos de la curva de calibrado, cada concentración con sus áreas.

Aldicarb Día 2

Figura 24

Curva de Calibración de Aldicarb día 2



Nota. Los puntos rojos son el promedio de las áreas obtenidas (puntos azules) por la repetición de cada punto de curva. Curva obtenida del Software de cuantificación LabSolutions Insight LCMS

tabla 6

Medición del área del pico de Aldicarb a diferentes concentraciones día 2

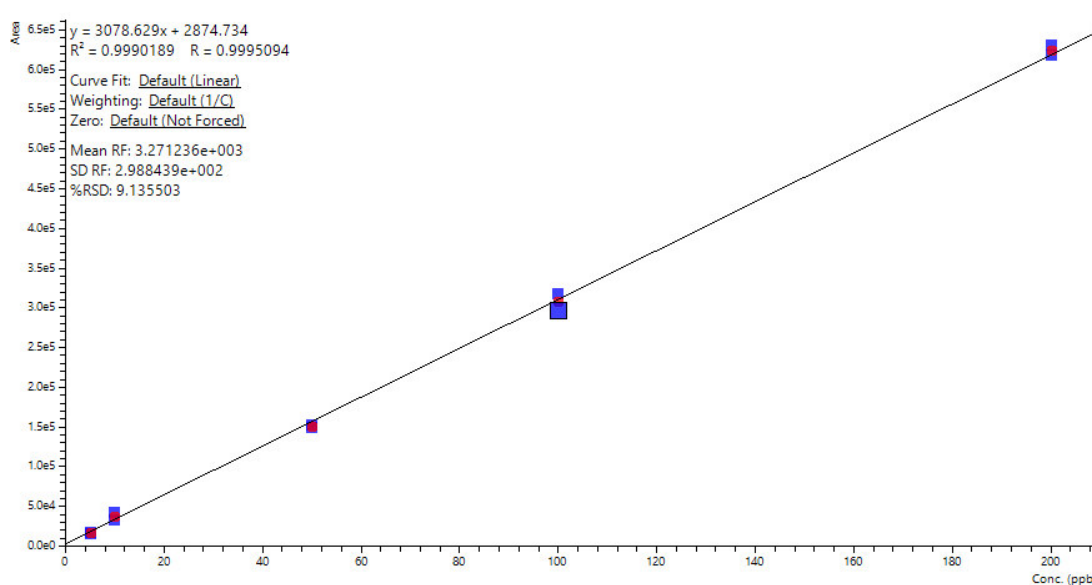
Concentración (ng/mL)	Área 1	Área 2
5	28672	24911
10	43116	34785
50	155467	168119
100	330467	330680
200	635479	640514

Nota. Puntos de la curva de calibrado, cada concentración con sus áreas.

Aldicarb Día 3

Figura 25

Curva de Calibración de Aldicarb día 3



Nota. Los puntos rojos son el promedio de las áreas obtenidas (puntos azules) por la repetición de cada punto de curva. Curva obtenida del Software de cuantificación LabSolutions Insight LCMS

tabla 7

Medición del área del pico de Aldicarb a diferentes concentraciones día 3

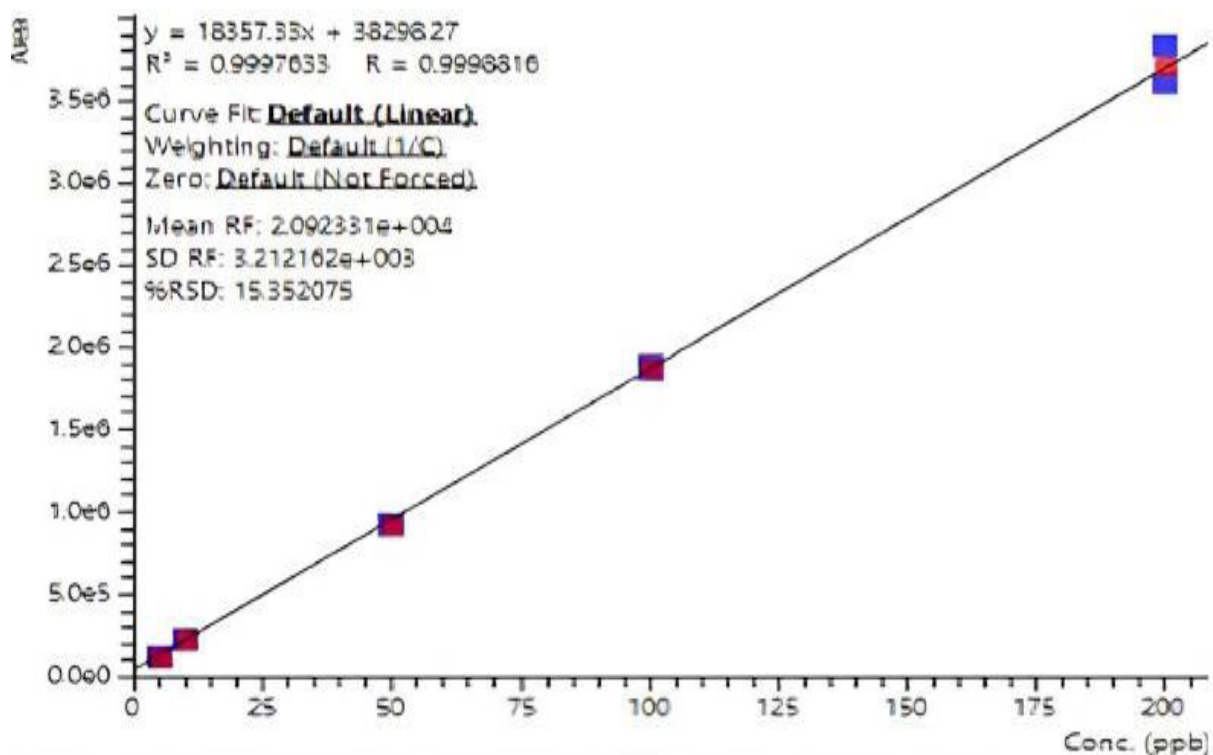
Concentración (ng/mL)	Área 1	Área 2
5	17534	16422
10	41918	32866
50	149241	152459
100	297711	318323
200	631570	618103

Nota. Puntos de la curva de calibrado, cada concentración con sus áreas.

Aldicarb Sulfona Día 1

Figura 26

Curva de Calibración de Aldicarb Sulfona día 1



Nota. Los puntos rojos son el promedio de las áreas obtenidas (puntos azules) por la repetición de cada punto de curva. Curva obtenida del Software de cuantificación LabSolutions Insight LCMS

tabla 8

Medición del área del pico de Aldicarb Sulfona a diferentes concentraciones día 1

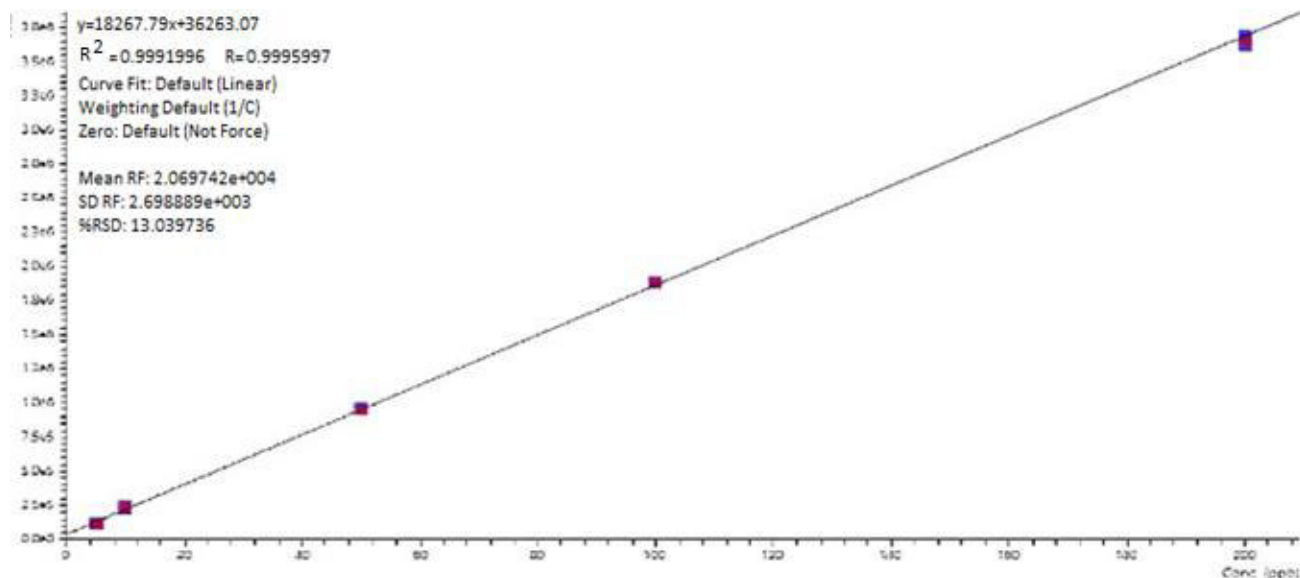
Concentración (ng/mL)	Área 1	Área 2
5	128830	127029
10	232233	227876
50	930802	928410
100	1870617	1893962
200	3832809	3611263

Nota. Puntos de la curva de calibrado, cada concentración con sus áreas.

Aldicarb Sulfona Día 2

Figura 27

Curva de Calibración de Aldicarb Sulfona día 2



Nota. Los puntos rojos son el promedio de las áreas obtenidas (puntos azules) por la repetición de cada punto de curva. Curva obtenida del Software de cuantificación LabSolutions Insight LCMS

tabla 9

Medición del área del pico de Aldicarb Sulfona a diferentes concentraciones día 2

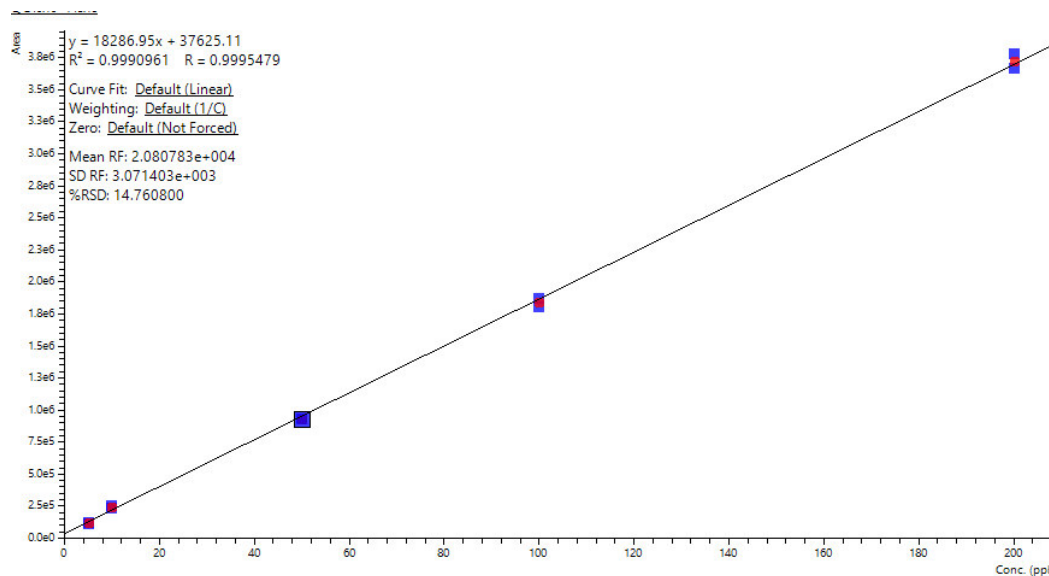
Concentración (ng/mL)	Área 1	Área 2
5	119393	113823
10	226053	252489
50	951461	962584
100	1884443	1882406
200	3687283	3615635

Nota. Puntos de la curva de calibrado, cada concentración con sus áreas.

Aldicarb Sulfona Día 3

Figura 28

Curva de Calibración de Aldicarb Sulfona día 3



Nota. Los puntos rojos son el promedio de las áreas obtenidas (puntos azules) por la repetición de cada punto de curva. Curva obtenida del Software de cuantificación LabSolutions Insight LCMS

tabla 10

Medición del área del pico de Aldicarb Sulfona a diferentes concentraciones día 3

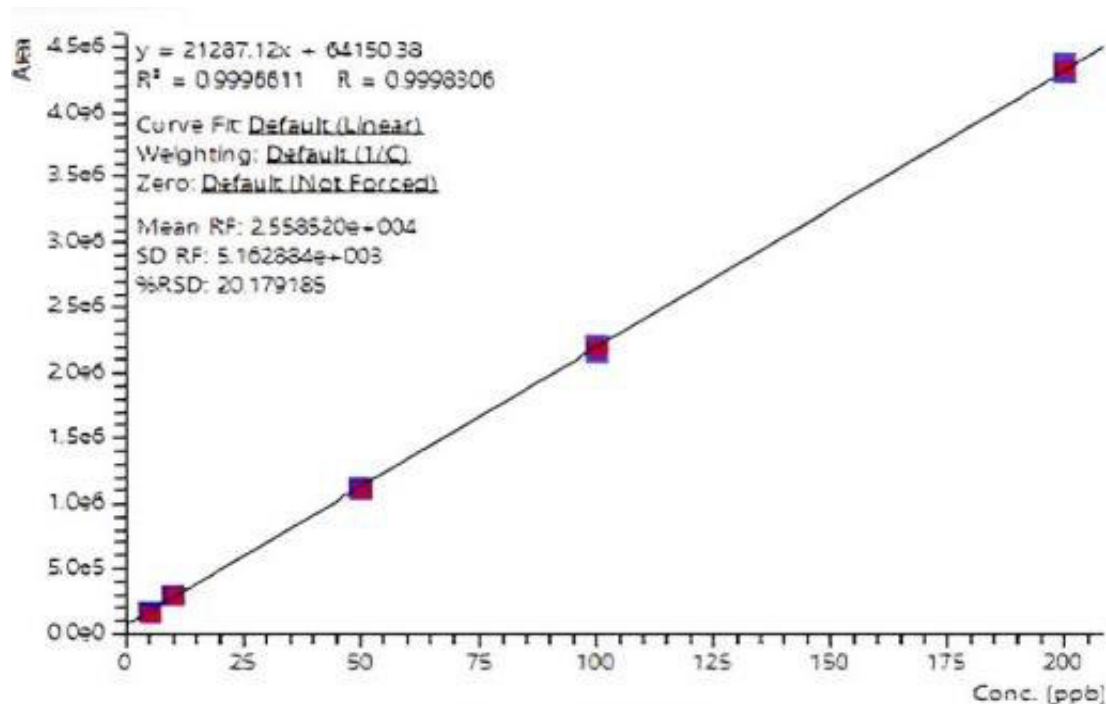
Concentración (ng/mL)	Área 1	Área 2
5	123736	115946
10	233360	253969
50	931721	934534
100	1874266	1810027
200	3777136	3671030

Nota. Puntos de la curva de calibrado, cada concentración con sus áreas.

Aldicarb Sulfoxido Día 1

Figura 29

Curva de Calibración de Aldicarb Sulfoxido día 1



Nota. Los puntos rojos son el promedio de las áreas obtenidas (puntos azules) por la repetición de cada punto de curva. Curva obtenida del Software de cuantificación LabSolutions Insight LCMS

tabla 11

Medición del área del pico de Aldicarb Sulfoxido a diferentes concentraciones día 1

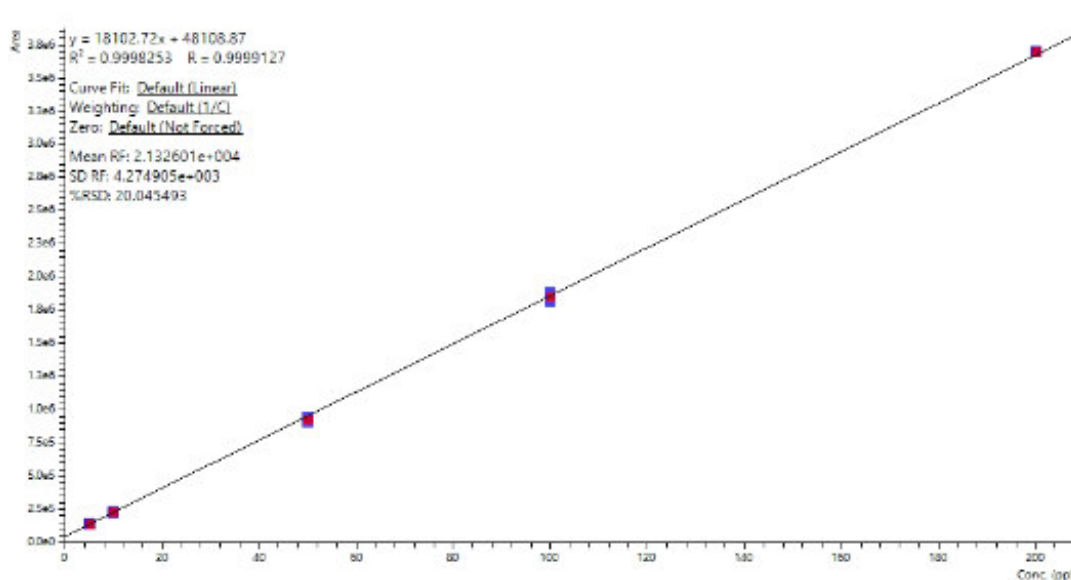
Concentración (ng/mL)	Área 1	Área 2
5	156818	168982
10	300050	287612
50	1115600	1106579
100	2205968	2167032
200	4369114	4301350

Nota. Puntos de la curva de calibrado, cada concentración con sus áreas.

Aldicarb Sulfoxido Día 2

Figura 30

Curva de Calibración de Aldicarb Sulfoxido día 2



Nota. Los puntos rojos son el promedio de las áreas obtenidas (puntos azules) por la repetición de cada punto de curva. Curva obtenida del Software de cuantificación LabSolutions Insight LCMS

tabla 12

Medición del área del pico de Aldicarb Sulfoxido a diferentes concentraciones día 2

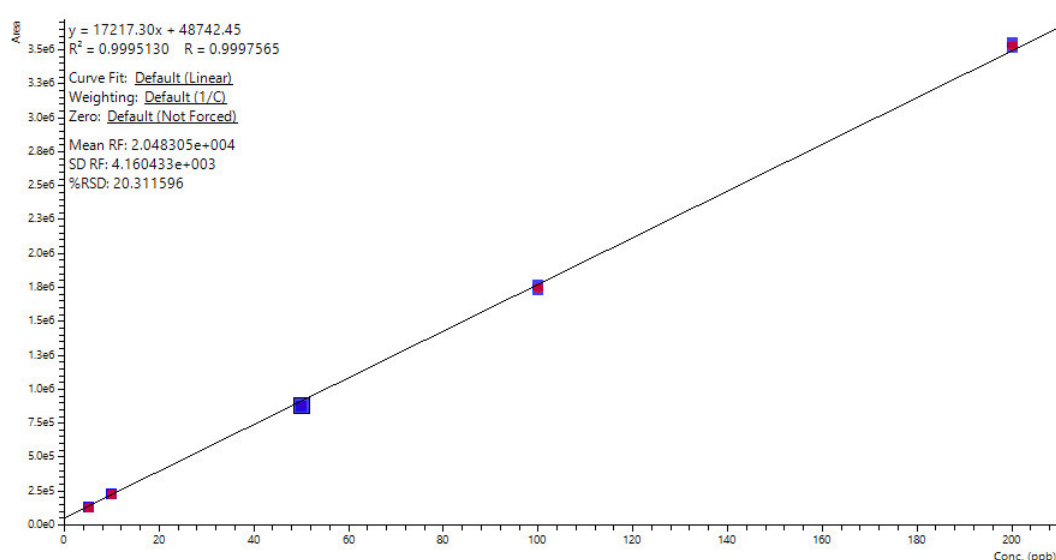
Concentración (ng/mL)	Área 1	Área 2
5	141165	141029
10	231470	224676
50	913135	947270
100	1819357	1863037
200	3698207	3696729

Nota. Puntos de la curva de calibrado, cada concentración con sus áreas.

Aldicarb Sulfoxido Día 3

Figura 31

Curva de Calibración de Aldicarb Sulfoxido día 3



Nota. Los puntos rojos son el promedio de las áreas obtenidas (puntos azules) por la repetición de cada punto de curva. Curva obtenida del Software de cuantificación LabSolutions Insight LCMS

tabla 13

Medición del área del pico de Aldicarb Sulfoxido a diferentes concentraciones día 3

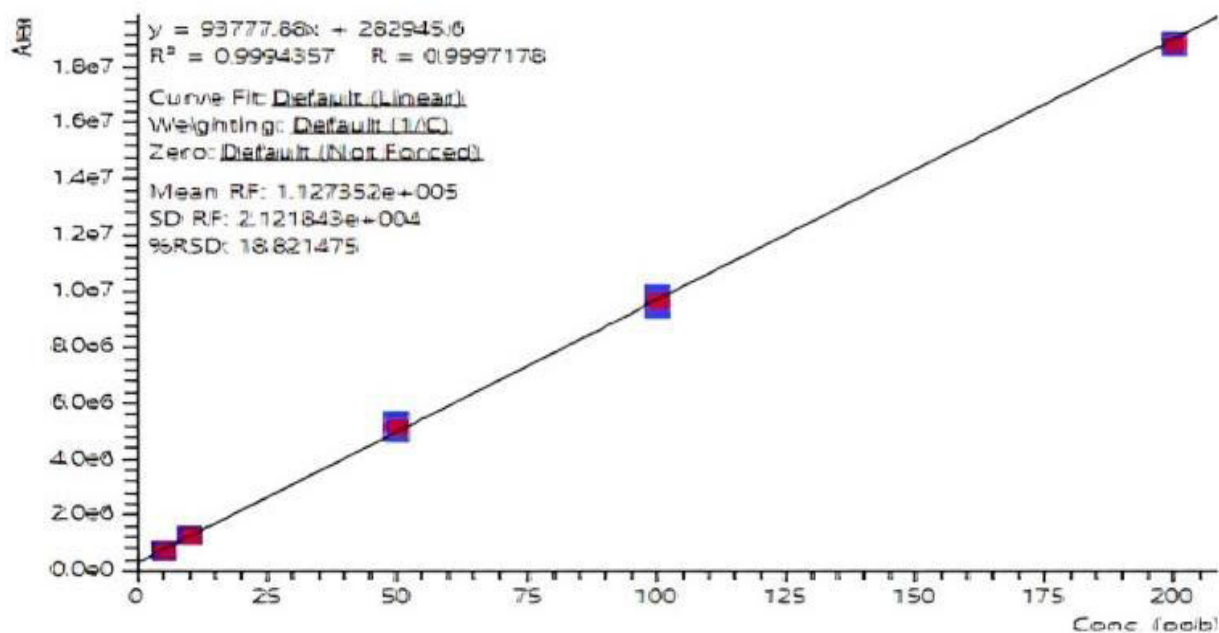
Concentración (ng/mL)	Área 1	Área 2
5	131855	134210
10	229737	231186
50	882661	876871
100	1764398	1732973
200	3521522	3550641

Nota. Puntos de la curva de calibrado, cada concentración con sus áreas.

Carbofurano Día 1

Figura 32

Curva de Calibración de Carbofurano día 1



Nota. Los puntos rojos son el promedio de las áreas obtenidas (puntos azules) por la repetición de cada punto de curva. Curva obtenida del Software de cuantificación LabSolutions Insight LCMS

tabla 14

Medición del área del pico de Carbofurano a diferentes concentraciones día 1

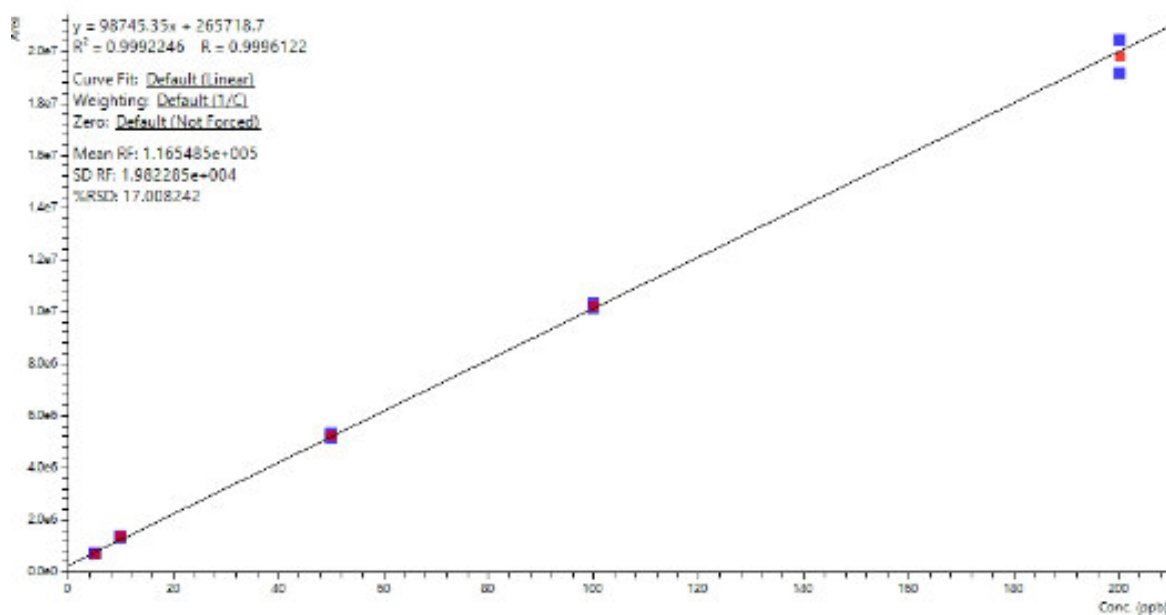
Concentración (ng/mL)	Área 1	Área 2
5	733742	693962
10	1262801	1276015
50	4969462	5361046
100	9905830	9367825
200	18946781	18769845

Nota. Puntos de la curva de calibrado, cada concentración con sus áreas.

Carbofurano Día 2

Figura 33

Curva de Calibración de Carbofurano día 2



Nota. Los puntos rojos son el promedio de las áreas obtenidas (puntos azules) por la repetición de cada punto de curva. Curva obtenida del Software de cuantificación LabSolutions Insight LCMS

tabla 15

Medición del área del pico de Carbofurano a diferentes concentraciones día 2

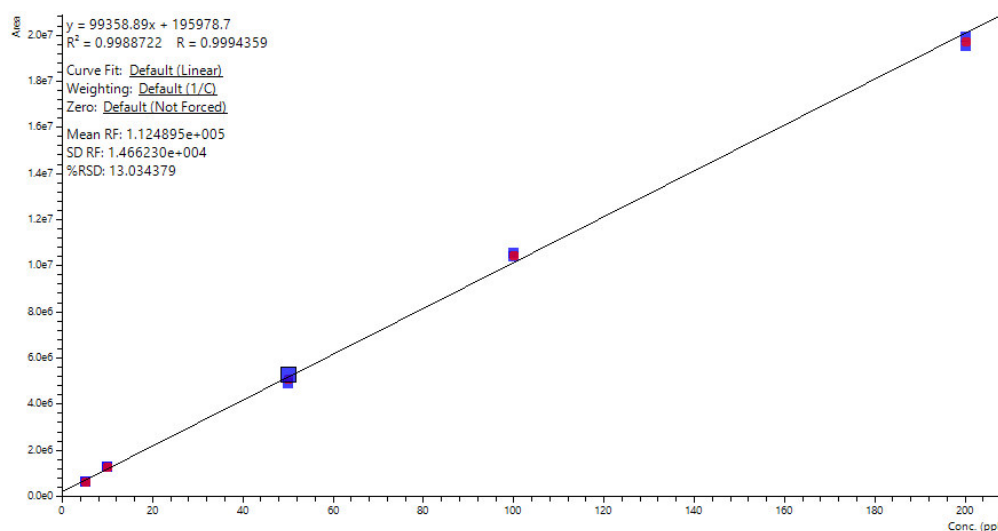
Concentración (ng/mL)	Área 1	Área 2
5	695334	707186
10	1354593	1363193
50	5193478	5309470
100	10362583	10148062
200	20427558	19179637

Nota. Puntos de la curva de calibrado, cada concentración con sus áreas.

Carbofurano Día 3

Figura 34

Curva de Calibración de Carbofurano día 3



Nota. Los puntos rojos son el promedio de las áreas obtenidas (puntos azules) por la repetición de cada punto de curva. Curva obtenida del Software de cuantificación LabSolutions Insight LCMS

tabla 16

Medición del área del pico de Carbofurano a diferentes concentraciones día 3

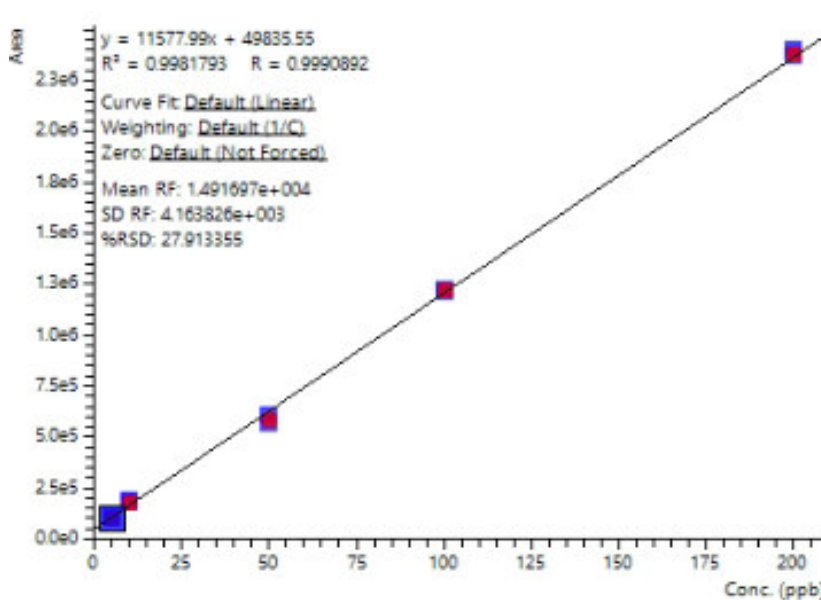
Concentración (ng/mL)	Área 1	Área 2
5	645344	639524
10	1265023	1299996
50	5318356	4907333
100	10539668	10425166
200	19907666	19543698

Nota. Puntos de la curva de calibrado, cada concentración con sus áreas.

Carbofurano-3-hidroxi Día 1

Figura 35

Curva de Calibración de Carbofurano-3-hidroxi día 1



Nota. Los puntos rojos son el promedio de las áreas obtenidas (puntos azules) por la repetición de cada punto de curva. Curva obtenida del Software de cuantificación LabSolutions Insight LCMS

tabla 17

Medición del área del pico de Carbofurano-3-hidroxi a diferentes concentraciones día 1

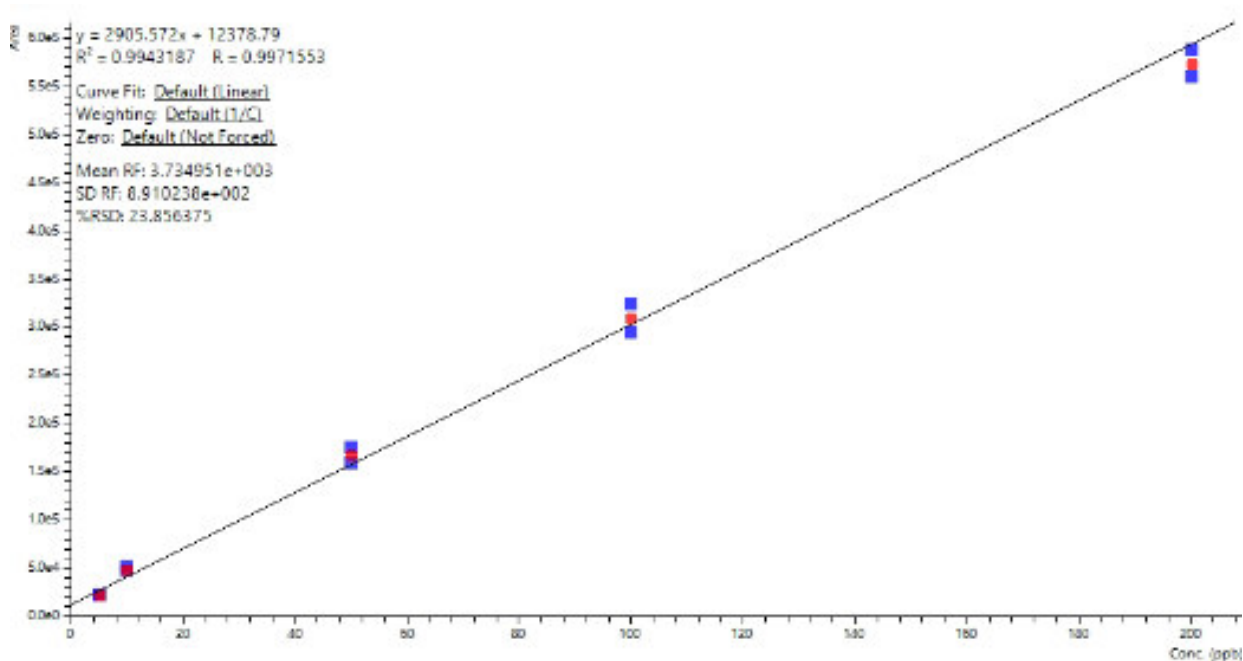
Concentración (ng/mL)	Área 1	Área 2
5	104826	101151
10	187132	175896
50	564921	605720
100	1215980	1225137
200	2368846	2400677

Nota. Puntos de la curva de calibrado, cada concentración con sus áreas.

Carbofurano-3-hidroxi Día 2

Figura 36

Curva de Calibración de Carbofurano-3-hidroxi día 2



Nota. Los puntos rojos son el promedio de las áreas obtenidas (puntos azules) por la repetición de cada punto de curva. Curva obtenida del Software de cuantificación LabSolutions Insight LCMS

tabla 18

Medición del área del pico de Carbofurano-3-hidroxi a diferentes concentraciones día 2

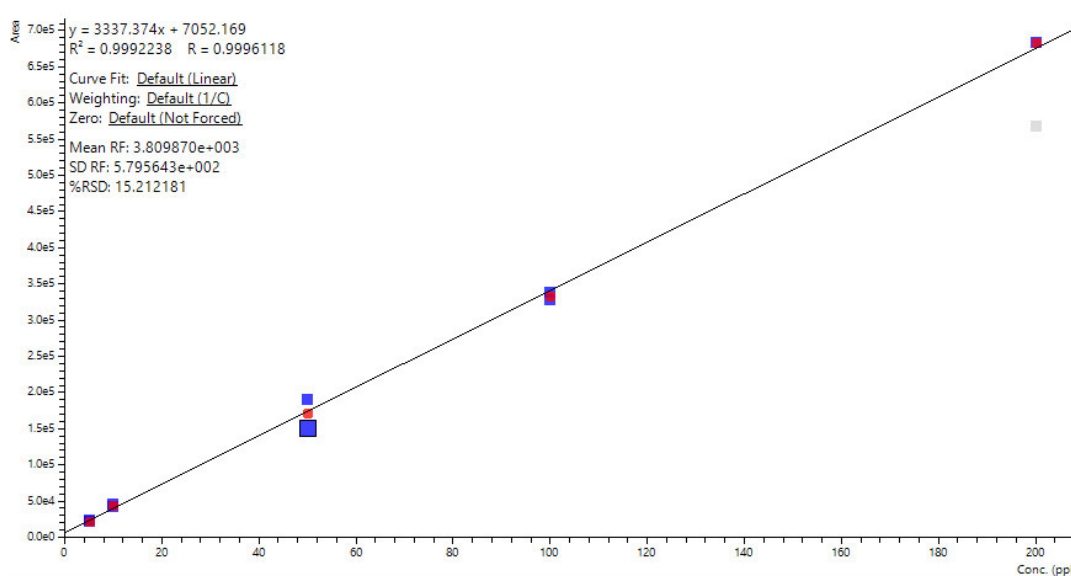
Concentración (ng/mL)	Área 1	Área 2
5	22224	22467
10	46609	51188
50	175534	159292
100	324751	294845
200	500196	587756

Nota. Puntos de la curva de calibrado, cada concentración con sus áreas.

Carbofurano-3-hidroxi Día 3

Figura 37

Curva de Calibración de Carbofurano-3-hidroxi día 3



Nota. Los puntos rojos son el promedio de las áreas obtenidas (puntos azules) por la repetición de cada punto de curva. Curva obtenida del Software de cuantificación LabSolutions Insight LCMS

tabla 19

Medición del área del pico de Carbofurano-3-hidroxi a diferentes concentraciones día 3

Concentración (ng/mL)	Área 1	Área 2
5	21802	23257
10	42241	45307
50	150735	191184
100	338505	327949
200	567970	682912

Nota. Puntos de la curva de calibrado, cada concentración con sus áreas.

3.1.2.2 Precisión

Aldicarb

Muestra de suelo agrícola de la ciudad de Ica con código s-i, muestra que tiene ausencia de aldicarb (Fig.38), se procedió a la fortificación con 100 ng/mL de aldicarb (Fig. 39)

Figura 38

Cromatograma de la muestra s-i

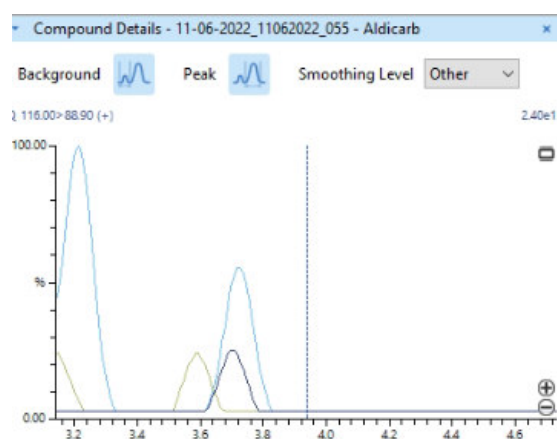


Figura 39

Cromatograma de la muestra s-i-ad (fortificada), cada fragmento señalando su respectivo pico

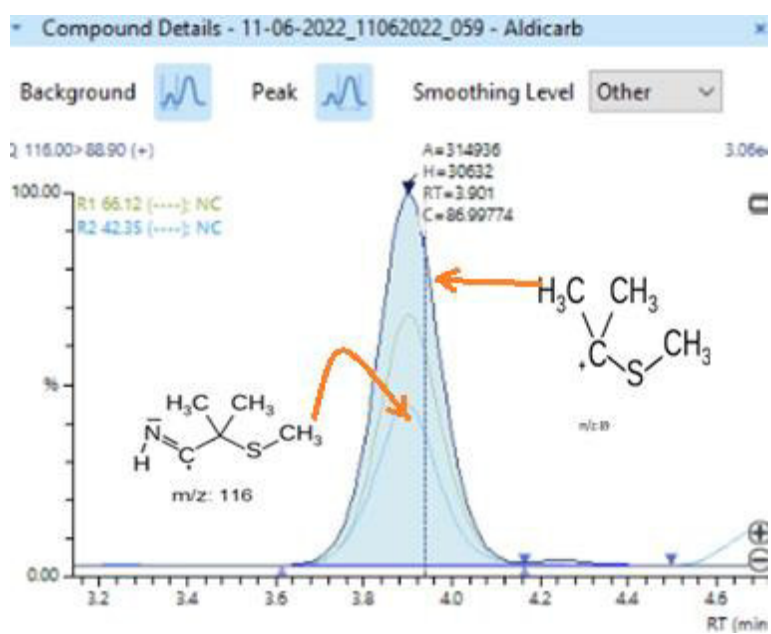


tabla 20

Resultados de las muestras del suelo de Ica fortificado s-i-ad para aldicarb a 100 ng/mL

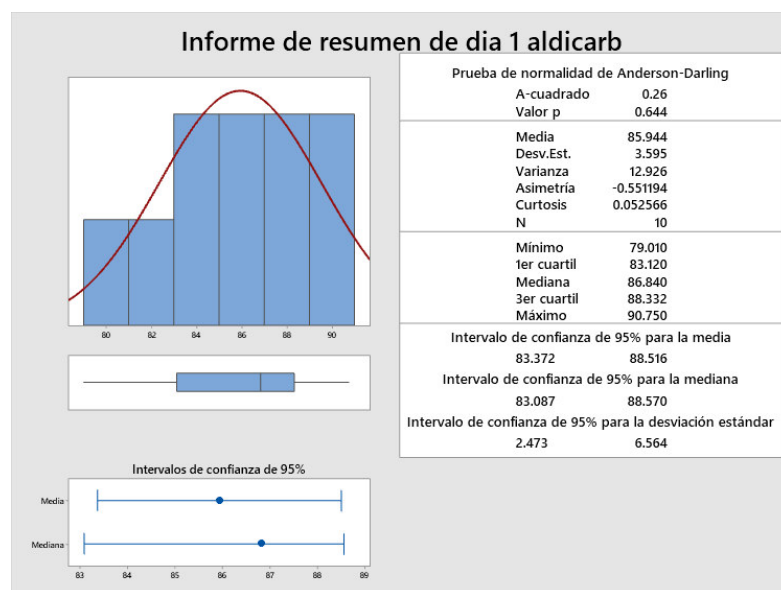
Código de Muestra	Día 1	Día 2	Día 3
s-i-ad1	90,26	90,04	89,51
s-i-ad2	84,45	86,96	88,73
s-i-ad3	86,69	87,26	84,49
s-i-ad4	86,99	93,89	81,45
s-i-ad5	82,85	91,86	83,71
s-i-ad6	83,21	91,15	84,66
s-i-ad7	90,75	77,63	83,75
s-i-ad8	87,54	86,00	92,99
s-i-ad9	79,01	83,46	91,82
s-i-ad10	87,69	91,08	96,67

Nota. Resultados de las 10 fortificaciones en suelo de Ica (s-i) en 10 días diferentes

Trabajando a un intervalo de confianza de 95%, se procede hacer la prueba de normalidad de Anderson-Darling

Figura 40

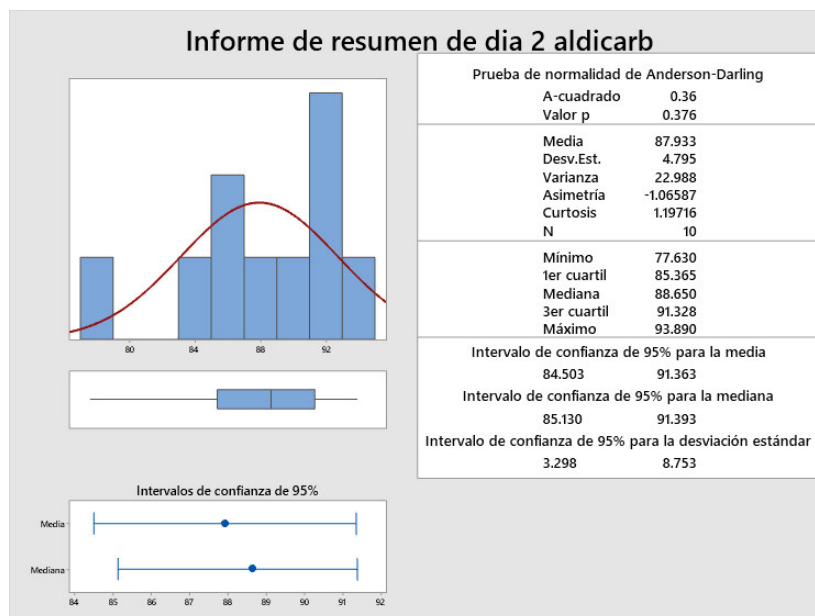
Resumen Grafico del día 1 Aldicarb



Nota. Si el P-Value $>0,05$ en la prueba Anderson-Darling, indica que los resultados tienen una distribución normal. Histograma, y datos obtenidos del Software MINITAB 19

Figura 41

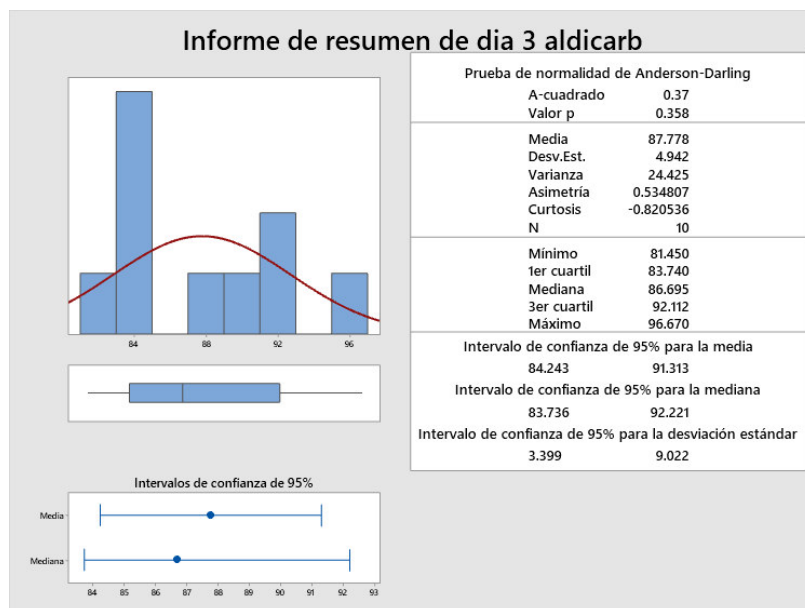
Resumen Grafico del día 2 Aldicarb



Nota. Si el P-Value $>0,05$ en la prueba Anderson-Darling, indica que los resultados tienen una distribución normal. Histograma, y datos obtenidos del Software MINITAB 19

Figura 42

Resumen Grafico del día 3 Aldicarb

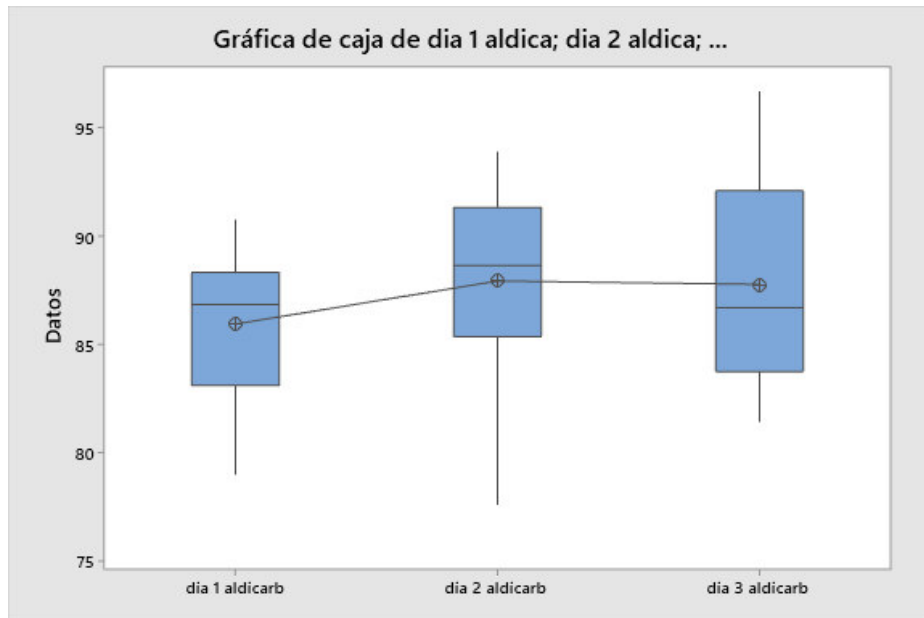


Nota. Si el P-Value $>0,05$ en la prueba Anderson-Darling, indica que los resultados tienen una distribución normal. Histograma, y datos obtenidos del Software MINITAB 19

Se procedió con la prueba ANOVA

Figura 43

Comparación de medias con ANOVA caso Aldicarb



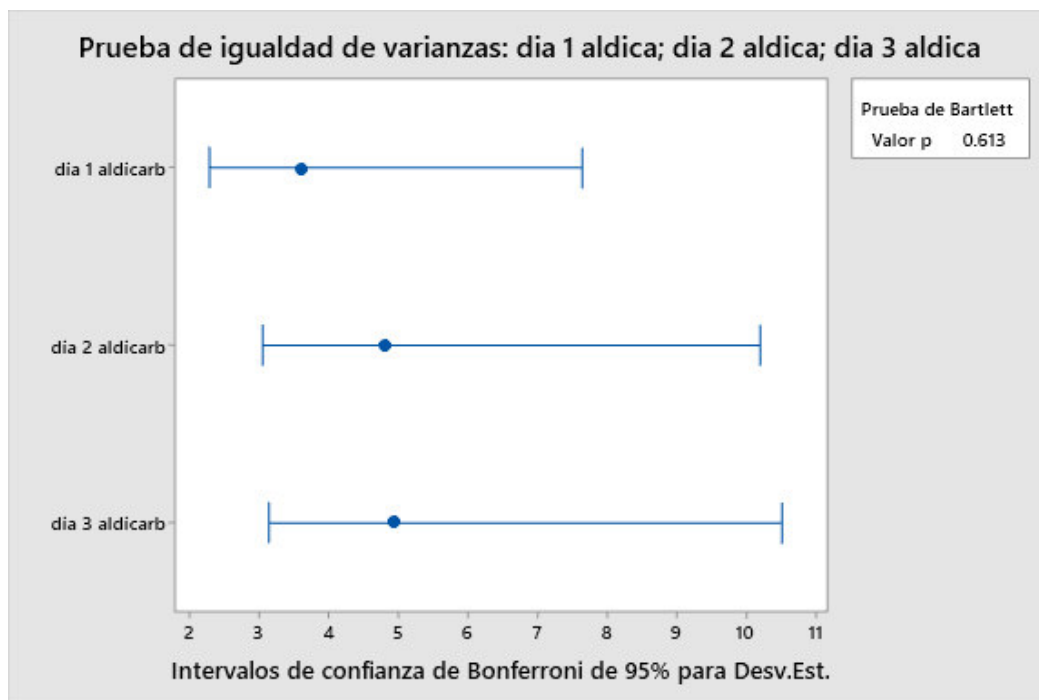
Nota. Si los datos tienen distribución normal y son más de tres grupos de muestra, se procede a realizar el ANOVA. Se aprecia en el diagrama de cajas que tienen medias parecidas.

Diagrama de cajas obtenidos del Software MINITAB 19

tabla 21

$p\text{-value} > 0,05$ afirmando que las medias son iguales

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Factor	2	24,48	12,24	0,61	0,551
Error	27	543,05	20,11		
Total	29	567,53			

Figura 44*Prueba de igualdad de varianzas caso Aldicarb*

Nota. Si los datos tienen distribución normal entonces se aplica la prueba de Bartlett para la igualdad de varianzas, si el p-value > 0,05 entonces las varianzas son iguales. Diagrama obtenido del Software MINITAB 19

Aldicarb Sulfona

Muestra de suelo agrícola de la ciudad de Ica con código s-i, muestra que tiene ausencia de aldicarb sulfona (Fig.45), se procedió a la fortificación con 100 ng/mL de aldicarb sulfona (Fig. 46)

Figura 45

Cromatograma de la muestra s-i (aldicarb sulfona)

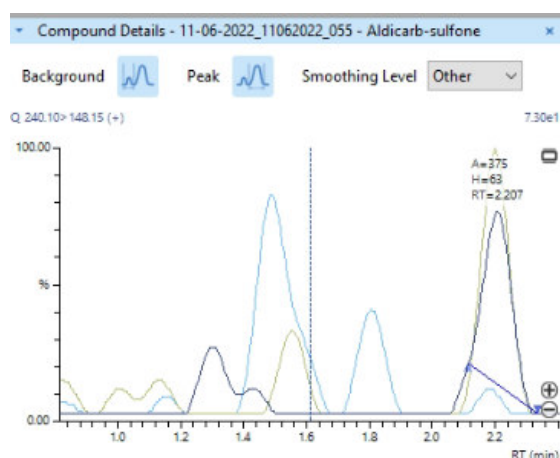


Figura 46

Cromatograma de la muestra s-i-ad (fortificada-aldicarb sulfona)

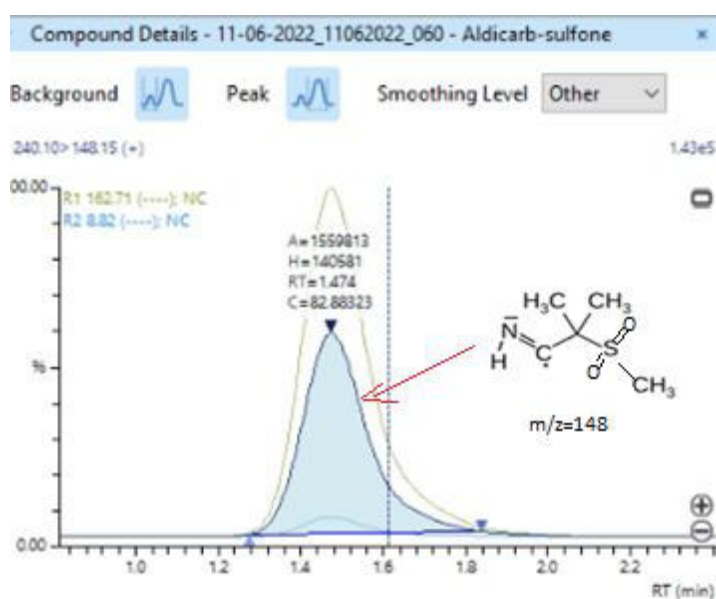


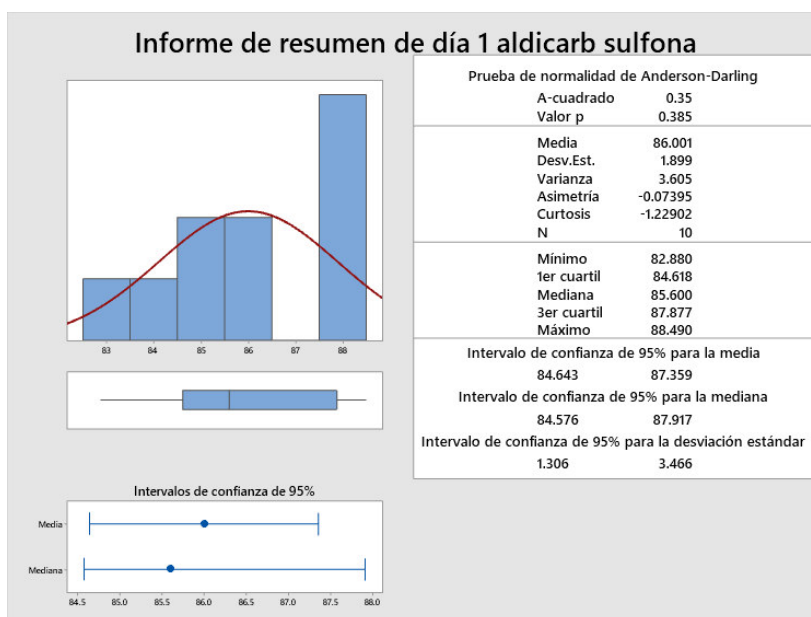
tabla 22

Resultados de las muestras del suelo de Ica fortificado s-i-ad para Aldicarb Sulfona a 100 ng/mL

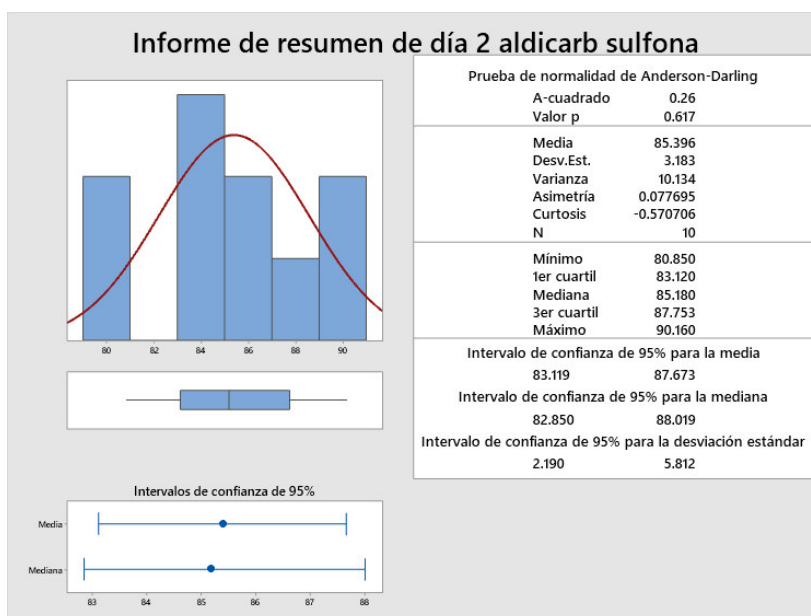
Código de Muestra	Día 1	Día 2	Día 3
s-i-ad1	88,20	90,16	88,11
s-i-ad2	84,90	80,85	85,87
s-i-ad3	87,77	89,92	85,02
s-i-ad4	88,49	86,32	89,22
s-i-ad5	82,88	84,54	85,45
s-i-ad6	87,56	84,59	82,57
s-i-ad7	85,54	80,93	86,49
s-i-ad8	84,28	83,85	83,28
s-i-ad9	84,73	85,77	88,16
s-i-ad10	85,66	87,03	85,35

Nota. Resultados de las 10 fortificaciones en suelo de Ica (s-i) en 10 días diferentes

Trabajando a un intervalo de confianza de 95%, se procede a hacer la prueba de normalidad de Anderson-Darling

Figura 47*Resumen Grafico del día 1 Aldicarb Sulfona*

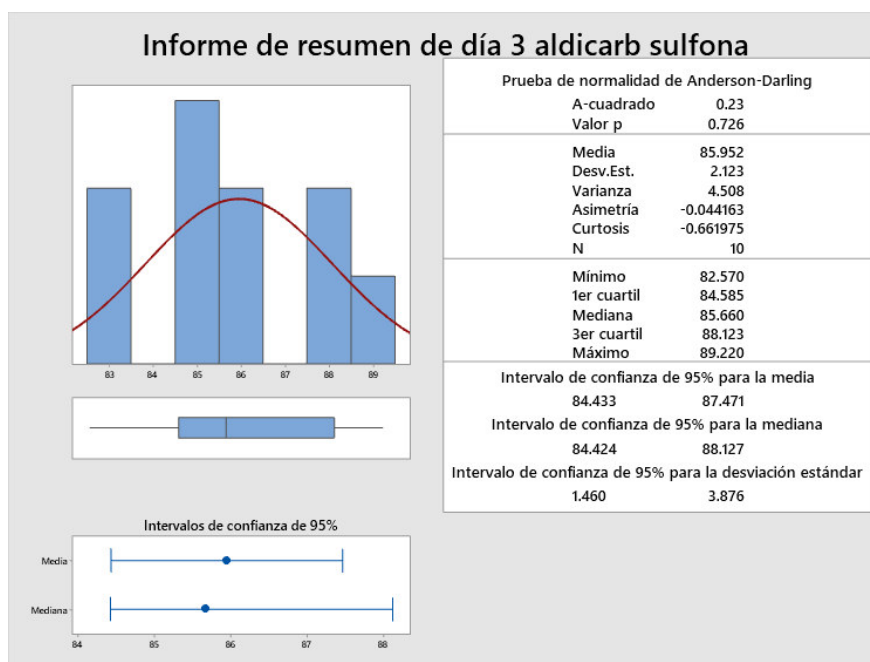
Nota. Si el P-Value $>0,05$ en la prueba Anderson-Darling, indica que los resultados tienen una distribución normal. Histograma, y datos obtenidos del Software MINITAB 19

Figura 48*Resumen Grafico del día 2 Aldicarb Sulfona*

Nota. Si el P-Value $>0,05$ en la prueba Anderson-Darling, indica que los resultados tienen una distribución normal. Histograma, y datos obtenidos del Software MINITAB 19

Figura 49

Resumen Grafico del día 3 Aldicarb Sulfona

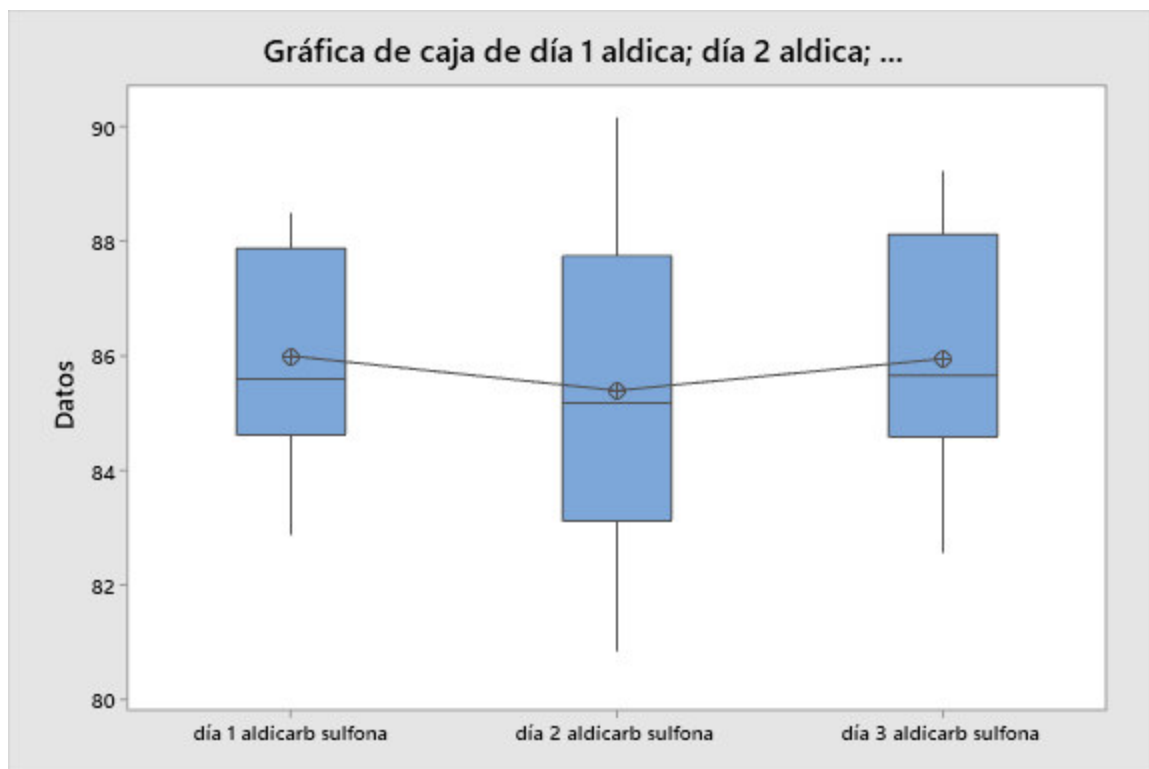


Nota. Si el P-Value $>0,05$ en la prueba Anderson-Darling, indica que los resultados tienen una distribución normal. Histograma, y datos obtenidos del Software MINITAB 19

Se procedió con la prueba ANOVA

Figura 50

Comparación de medias con ANOVA caso Aldicarb Sulfona



Nota. Si los datos tienen distribución normal y son más de tres grupos de muestra, se procede a realizar el ANOVA. Se aprecia en el diagrama de cajas que tienen medias parecidas.

Diagrama de cajas obtenidos del Software MINITAB 19

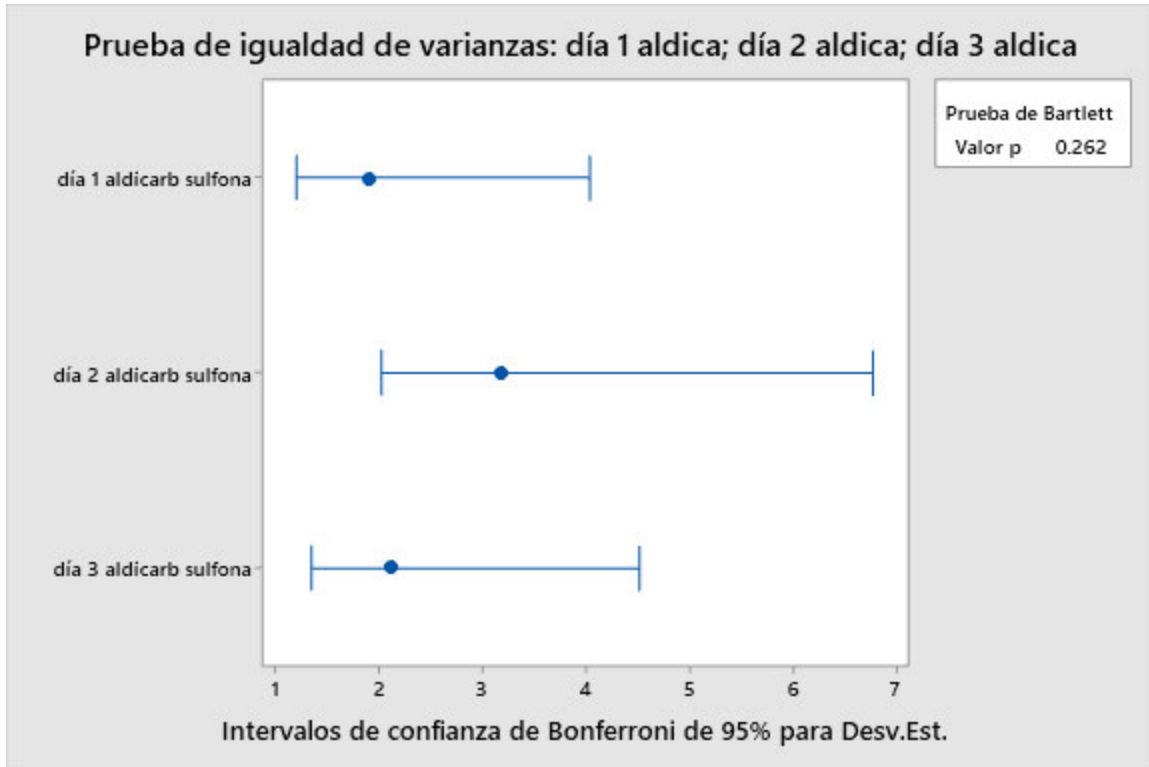
tabla 23

p-value > 0,05 afirmando que las medias son iguales

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Factor	2	2,259	1,129	0,19	0,832
Error	27	164,228	6,083		
Total	29	166,486			

Figura 51

Prueba de igualdad de varianzas caso Aldicarb Sulfona



Nota. Si los datos tienen distribución normal entonces se aplica la prueba de Bartlett para la igualdad de varianzas, si el p-value > 0,05 entonces las varianzas son iguales. Diagrama obtenido del Software MINITAB 19

Aldicarb Sulfoxido

Muestra de suelo agrícola de la ciudad de Ica con código s-i, muestra que tiene ausencia de aldicarb sulfoxido (Fig.52), se procedió a la fortificación con 100 ng/mL de aldicarb sulfoxido (Fig. 53)

Figura 52

Cromatograma de la muestra s-i (aldicarb sulfoxido)

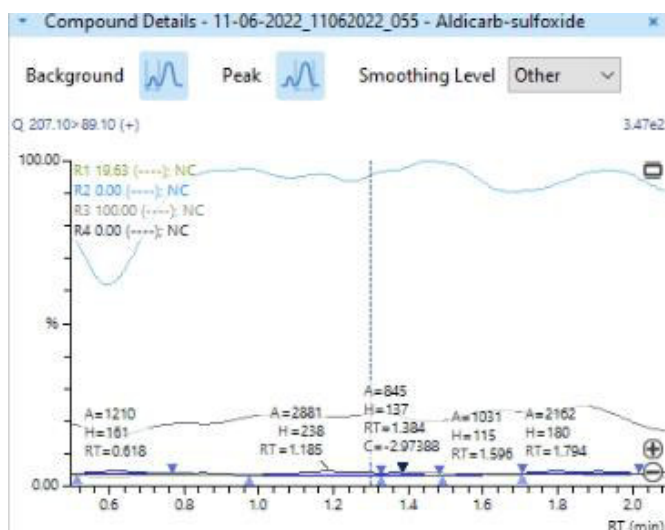


Figura 53

Cromatograma de la muestra s-i-ad (fortificada-aldicarb sulfoxido)

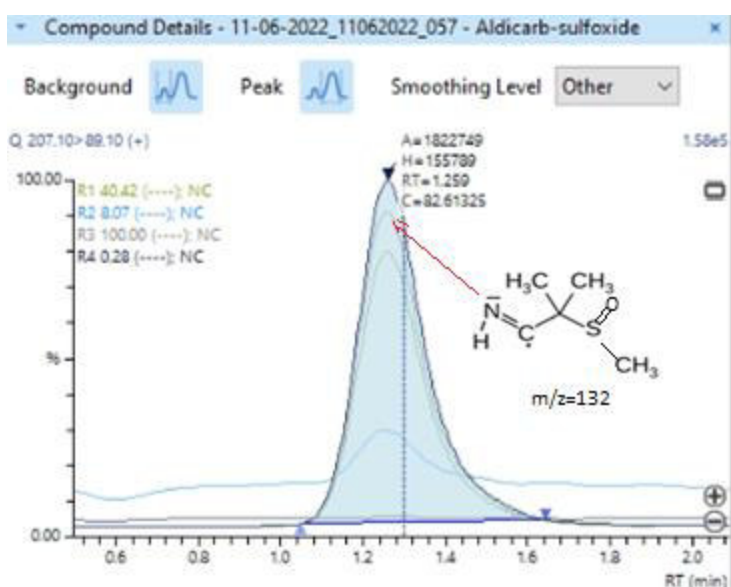


tabla 24

Resultados de las muestras del suelo de Ica fortificado s-i-ad para Aldicarb Sulfóxido a 100 ng/mL

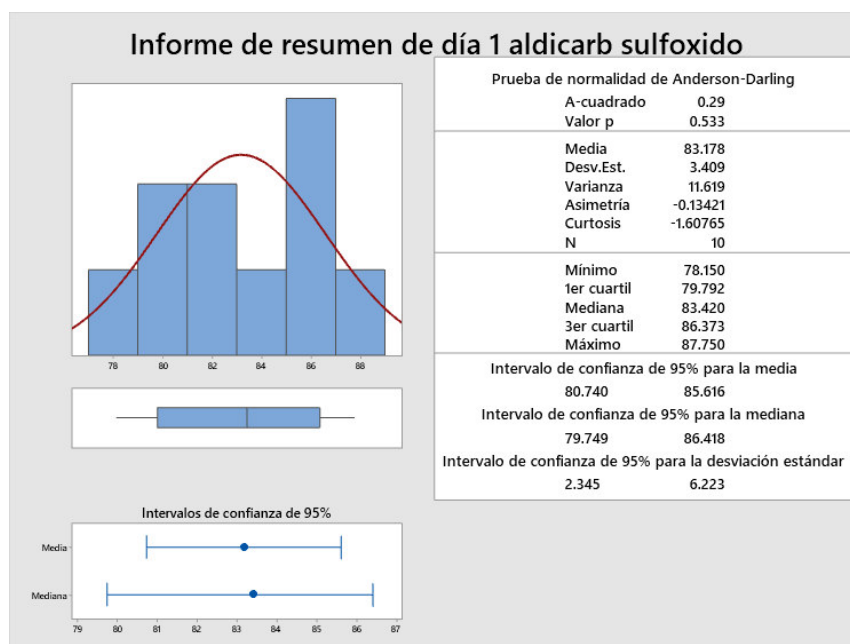
Código de Muestra	Día 1	Día 2	Día 3
s-i-ad1	85,60	81,12	84,02
s-i-ad2	82,61	86,07	84,61
s-i-ad3	86,25	84,98	79,98
s-i-ad4	84,23	85,34	81,18
s-i-ad5	79,44	83,47	80,52
s-i-ad6	86,74	85,75	82,79
s-i-ad7	79,91	84,15	81,78
s-i-ad8	81,10	80,73	81,67
s-i-ad9	87,75	79,98	81,43
s-i-ad10	78,15	83,06	79,82

Nota. Resultados de las 10 fortificaciones en suelo de Ica (s-i) en 10 días diferentes

Trabajando a un intervalo de confianza de 95%, se procede a hacer la prueba de normalidad de Anderson-Darling

Figura 54

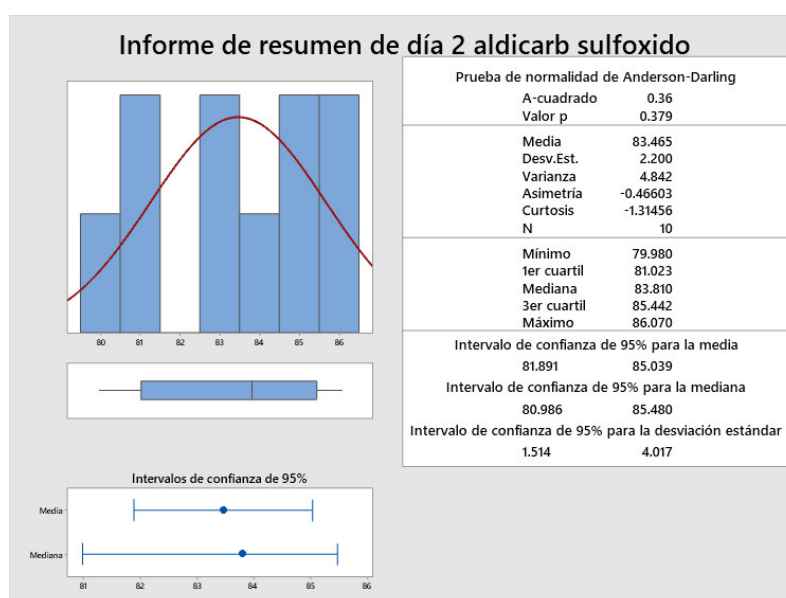
Resumen Grafico del día 1 Aldicarb Sulfóxido



Nota. Si el P-Value $>0,05$ en la prueba Anderson-Darling, indica que los resultados tienen una distribución normal. Histograma, y datos obtenidos del Software MINITAB 19

Figura 55

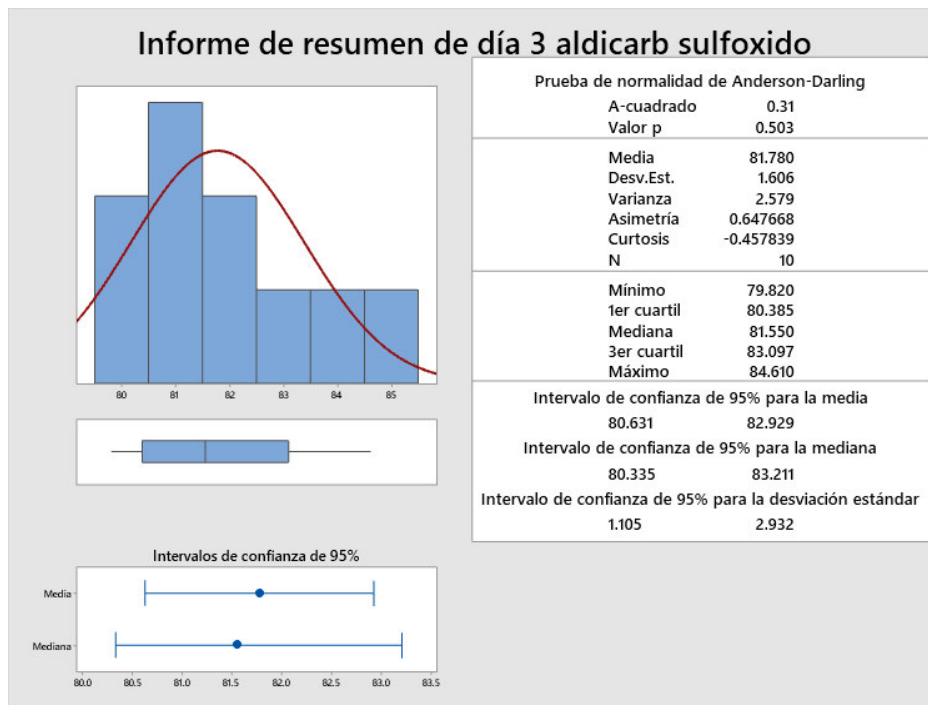
Resumen Grafico del día 2 Aldicarb Sulfóxido



Nota. Si el P-Value $>0,05$ en la prueba Anderson-Darling, indica que los resultados tienen una distribución normal. Histograma, y datos obtenidos del Software MINITAB 19

Figura 56

Resumen Grafico del día 3 Aldicarb Sulfóxido

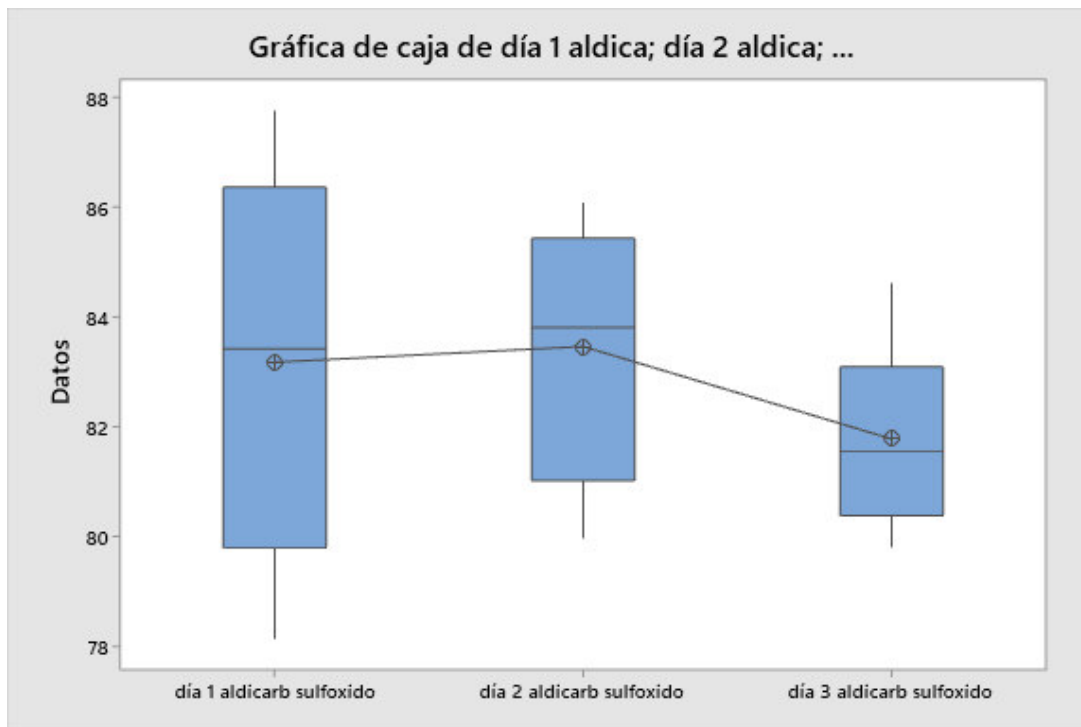


Nota. Si el P-Value $>0,05$ en la prueba Anderson-Darling, indica que los resultados tienen una distribución normal. Histograma, y datos obtenidos del Software MINITAB 19

Se procedió con la prueba ANOVA

Figura 57

Comparación de medias con ANOVA caso Aldicarb Sulfoxido



Nota. Si los datos tienen distribución normal y son más de tres grupos de muestra, se procede a realizar el ANOVA. Se aprecia en el diagrama de cajas que tienen medias parecidas.

Diagrama de cajas obtenidos del Software MINITAB 19

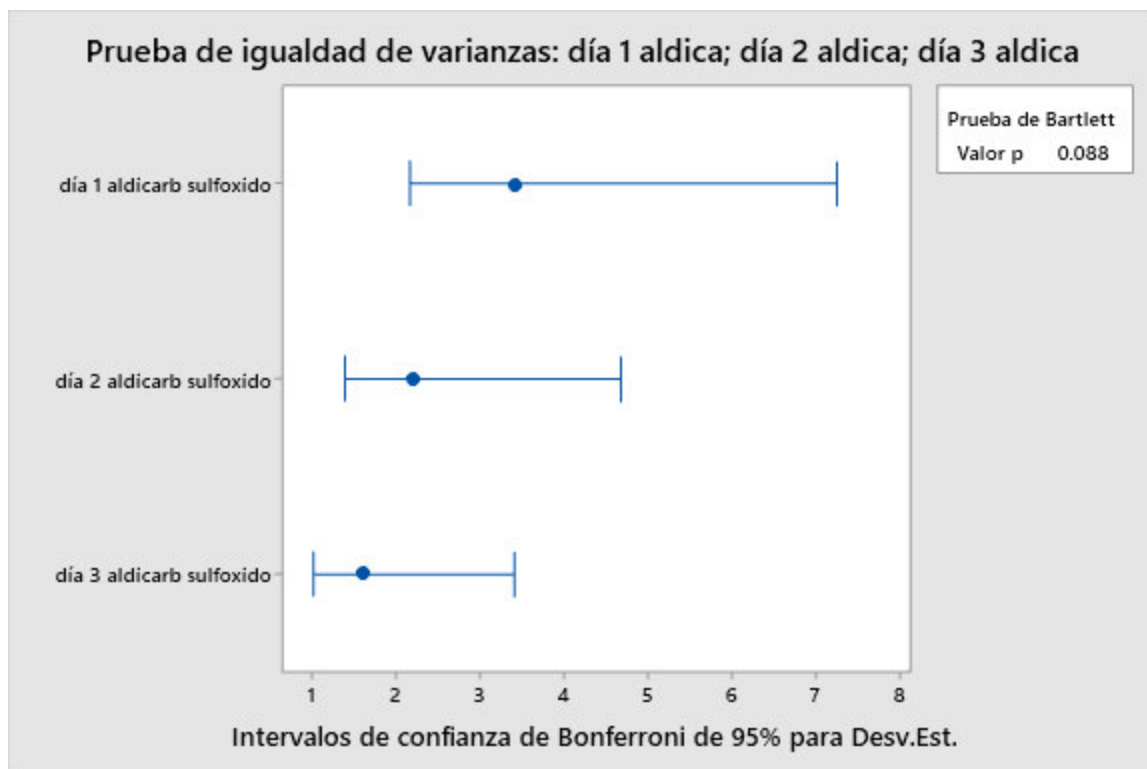
tabla 25

p-value > 0,05 afirmando que las medias son iguales

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Factor	2	16,25	8,127	1,28	0,294
Error	27	171,36	6,347		
Total	29	187,61			

Figura 58

Prueba de igualdad de varianzas caso Aldicarb Sulfoxido



Nota. Si los datos tienen distribución normal entonces se aplica la prueba de Bartlett para la igualdad de varianzas, si el p-value > 0,05 entonces las varianzas son iguales. Diagrama obtenido del Software MINITAB 19

Carbofurano

Muestra de suelo agrícola de la ciudad de Ica con código s-i, muestra que tiene ausencia de carbofurano (Fig.59), se procedió a la fortificación con 100 ng/mL de carbofurano (Fig. 60)

Figura 59

Cromatograma de la muestra s-i (Carbofurano)

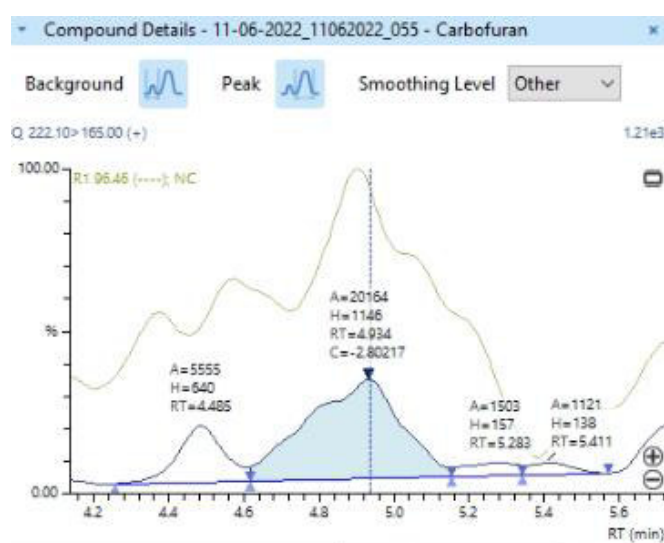


Figura 60

Cromatograma de la muestra s-i-ad (fortificada-carbofurano)

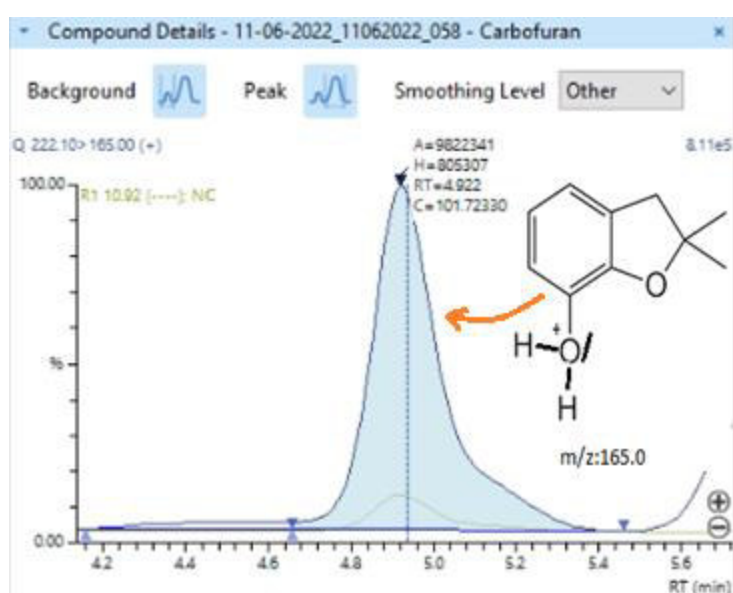


tabla 26

Resultados de las muestras del suelo de Ica fortificado s-i-ad para Carbofurano a 100 ng/mL

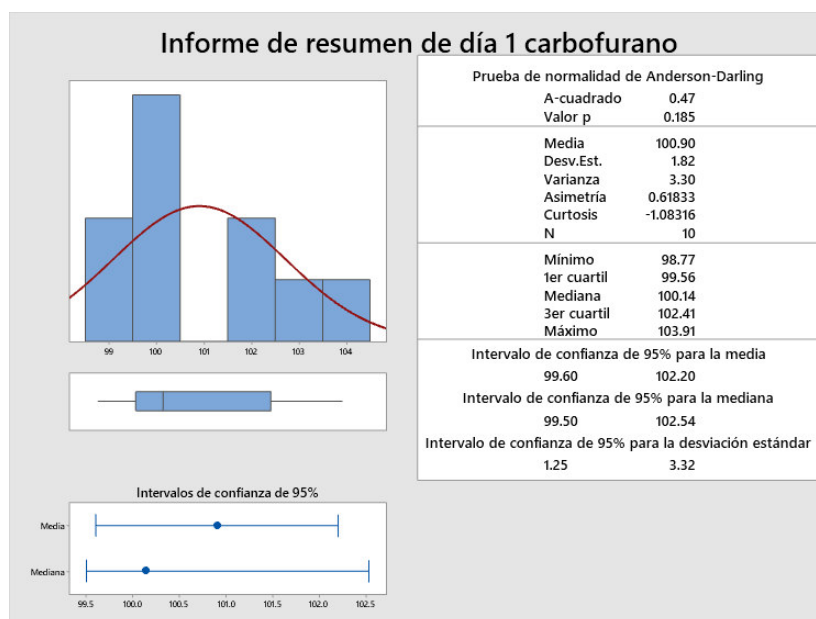
Código de Muestra	Día 1	Día 2	Día 3
s-i-ad1	100,01	99,38	99,73
s-i-ad2	103,91	93,10	94,07
s-i-ad3	99,72	96,19	98,36
s-i-ad4	103,45	99,99	97,42
s-i-ad5	98,77	98,11	95,99
s-i-ad6	102,06	99,85	98,62
s-i-ad7	101,98	100,69	100,40
s-i-ad8	99,09	102,21	102,53
s-i-ad9	100,27	102,48	99,99
s-i-ad10	99,78	95,27	97,61

Nota. Resultados de las 10 fortificaciones en suelo de Ica (s-i) en 10 días diferentes

Trabajando a un intervalo de confianza de 95%, se procede hacer la prueba de normalidad de Anderson-Darling

Figura 61

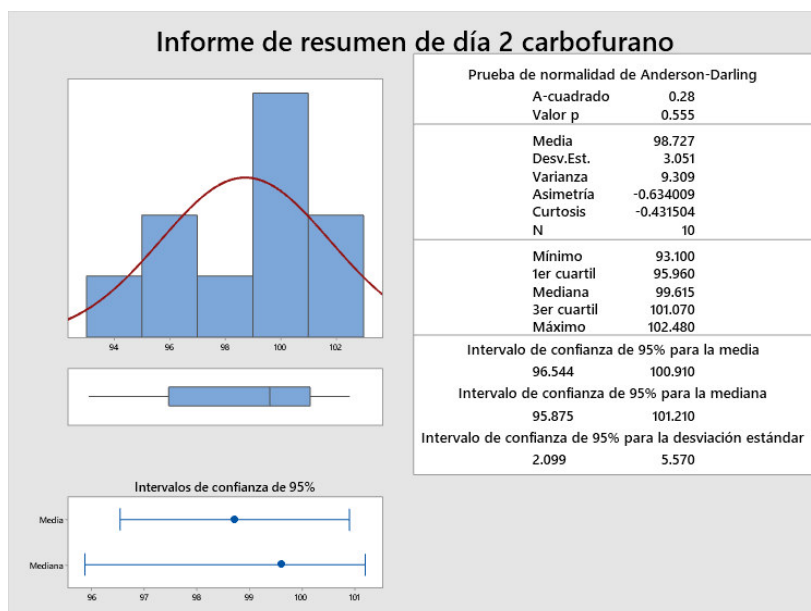
Resumen Grafico del día 1 Carbofurano



Nota. Si el P-Value $>0,05$ en la prueba Anderson-Darling, indica que los resultados tienen una distribución normal. Histograma, y datos obtenidos del Software MINITAB 19

Figura 62

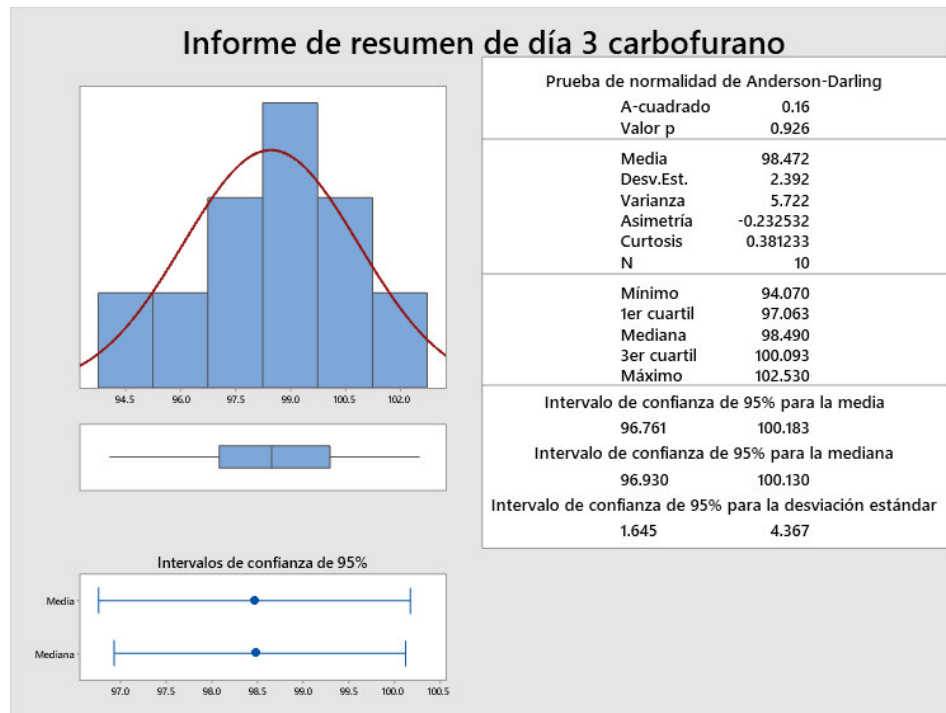
Resumen Grafico del día 2 Carbofurano



Nota. Si el P-Value $>0,05$ en la prueba Anderson-Darling, indica que los resultados tienen una distribución normal. Histograma, y datos obtenidos del Software MINITAB 19

Figura 63

Resumen Grafico del día 3 Carbofurano

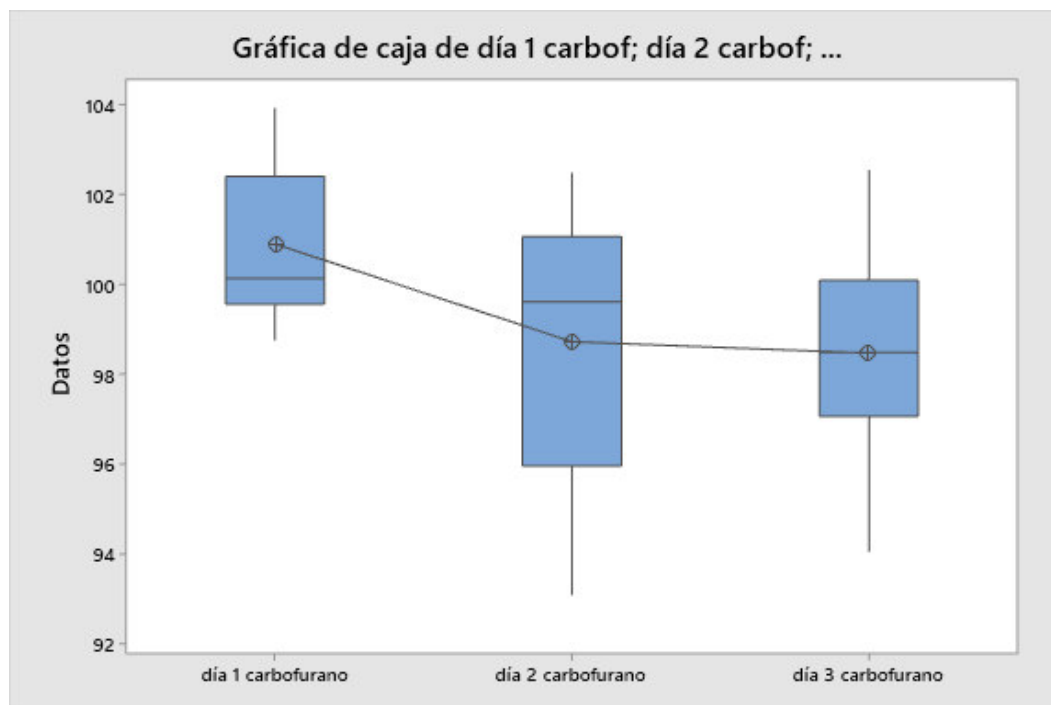


Nota. Si el P-Value $>0,05$ en la prueba Anderson-Darling, indica que los resultados tienen una distribución normal. Histograma, y datos obtenidos del Software MINITAB 19

Se procedió con la prueba ANOVA

Figura 64

Comparación de medias con ANOVA caso Carbofurano



Nota. Si los datos tienen distribución normal y son más de tres grupos de muestra, se procede a realizar el ANOVA. Se aprecia en el diagrama de cajas que tienen medias parecidas.

Diagrama de cajas obtenidos del Software MINITAB 19

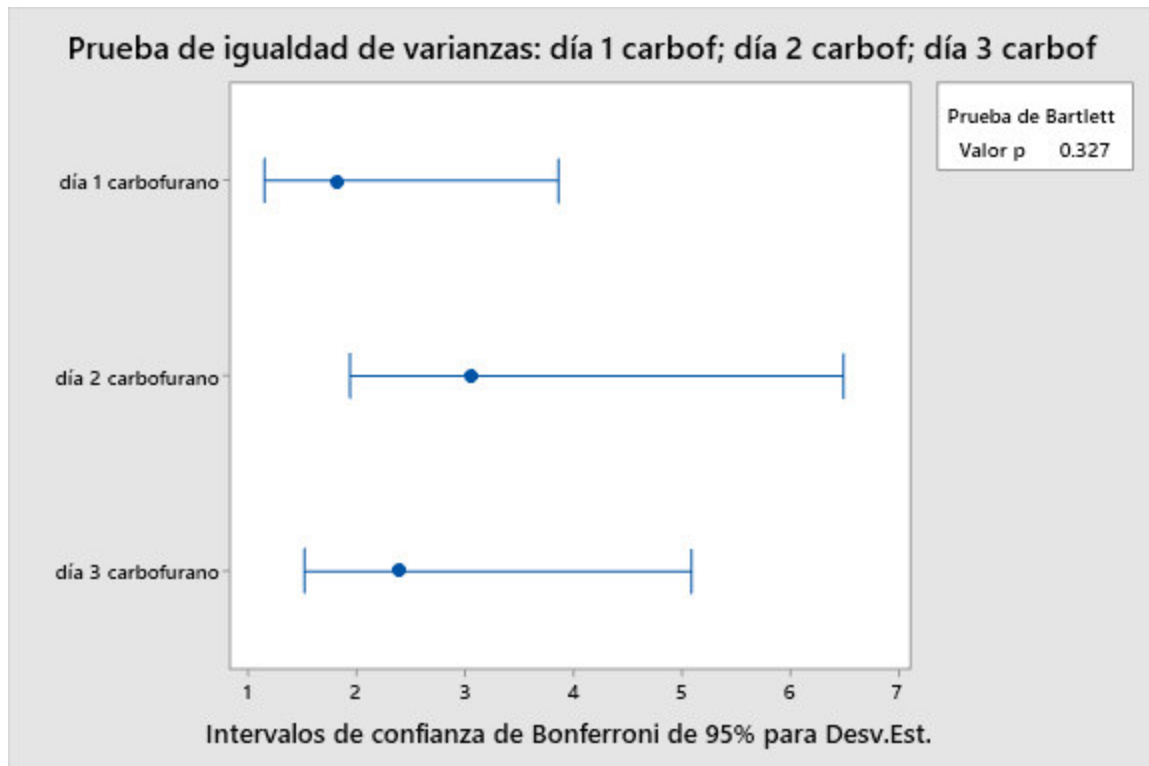
tabla 27

p-value > 0,05 afirmando que las medias son iguales

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Factor	2	35,73	17,865	2,92	0,071
Error	27	165,00	6,111		
Total	29	200,73			

Figura 65

Prueba de igualdad de varianzas caso Carbofurano



Nota. Si los datos tienen distribución normal entonces se aplica la prueba de Bartlett para la igualdad de varianzas, si el p-value > 0,05 entonces las varianzas son iguales. Diagrama obtenido del Software MINITAB 19

Carbofurano-3-hidroxi

Muestra de suelo agrícola de la ciudad de Ica con código s-i, muestra que tiene ausencia de carbofurano-3-hidroxi (Fig.66), se procedió a la fortificación con 100 ng/mL de carbofurano-3-hidroxi (Fig. 67)

Figura 66

Cromatograma de la muestra s-i (Carbofurano-3-hidroxi)

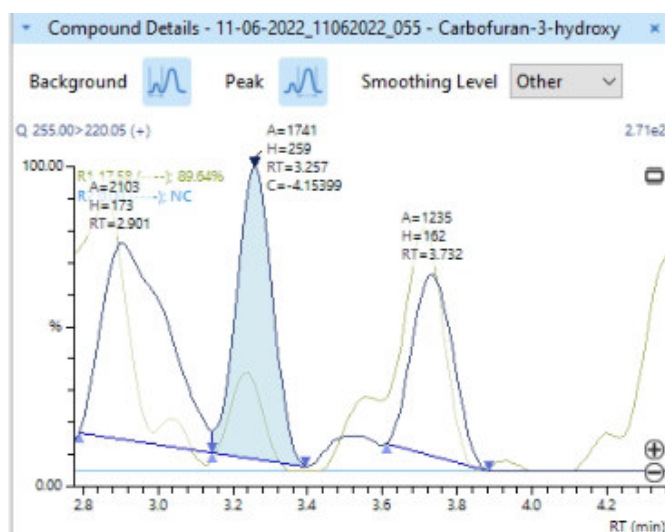


Figura 67

Cromatograma de la muestra s-i-ad (fortificada-carbofurano-3-hidroxi)

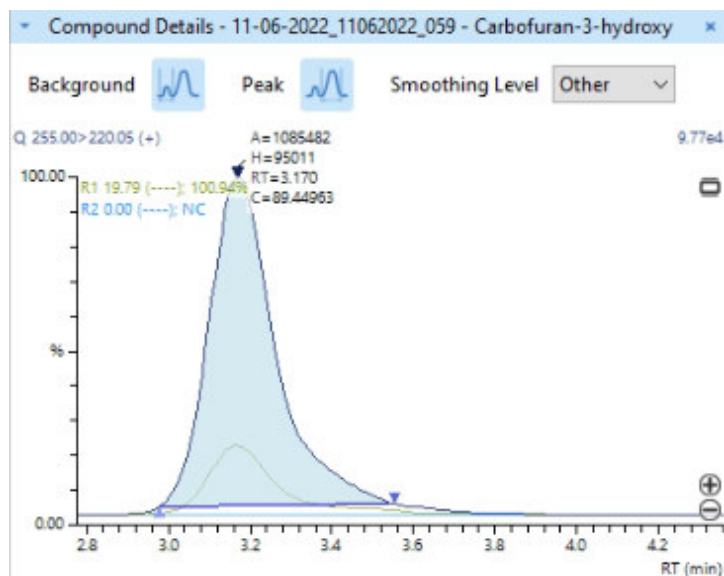


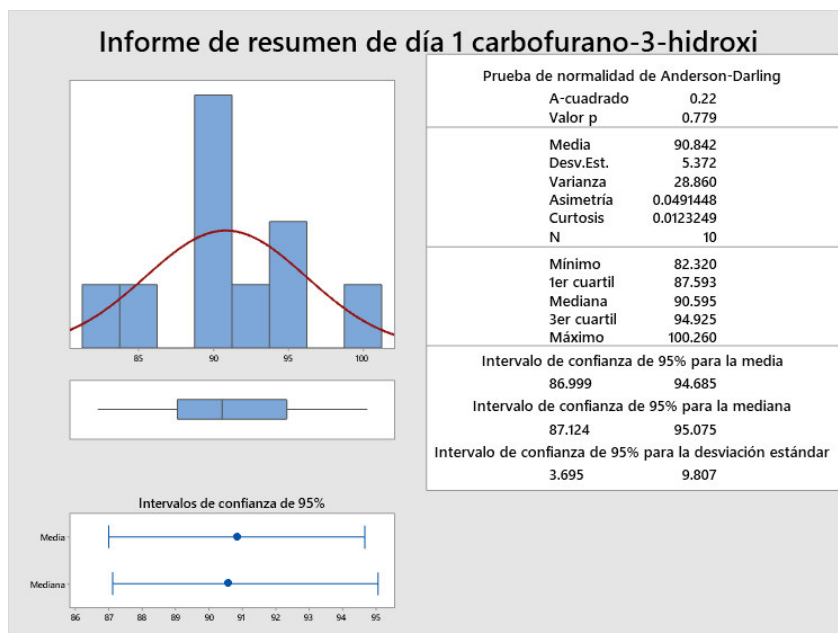
tabla 28

Resultados de las muestras fortificadas de lca s-i-ad para carbofurano-3-hidroxi a 100 ng/mL

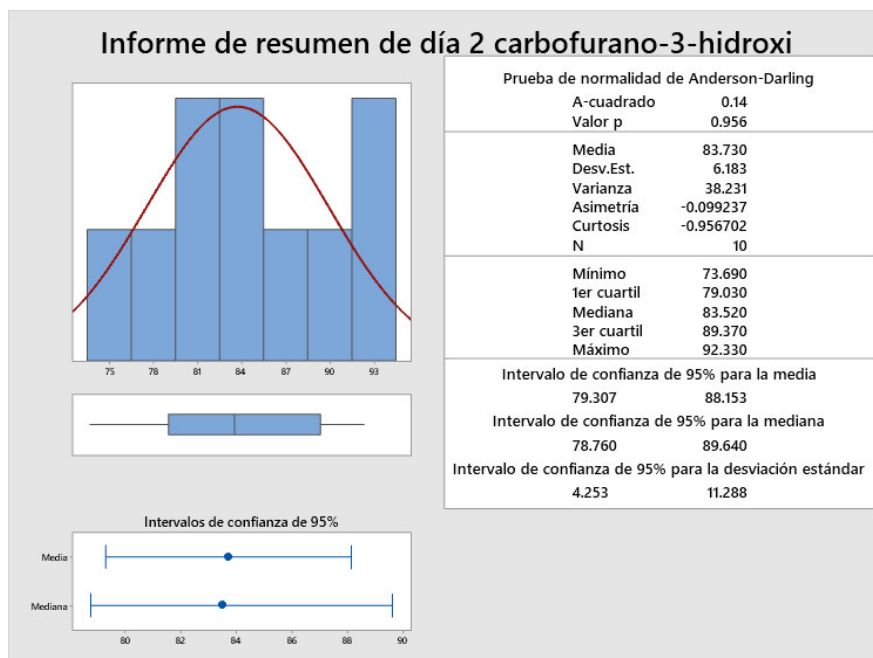
Código de Muestra	Dia 1	Dia 2	Dia 3
s-i-ad1	82,32	84,45	97,11
s-i-ad2	83,79	76,84	87,53
s-i-ad3	90,59	91,56	76,24
s-i-ad4	89,45	92,33	94,77
s-i-ad5	91,89	73,69	93,87
s-i-ad6	88,86	80,65	91,34
s-i-ad7	96,14	79,76	87,20
s-i-ad8	100,26	88,64	75,11
s-i-ad9	94,52	86,79	96,19
s-i-ad10	90,60	82,59	81,38

Nota. Resultados de las 10 fortificaciones en suelo de lca (s-i) en 10 días diferentes

Trabajando a un intervalo de confianza de 95%, se procede hacer la prueba de normalidad de Anderson-Darling

Figura 68*Resumen Grafico del día 1 Carbofurano-3-hidroxi*

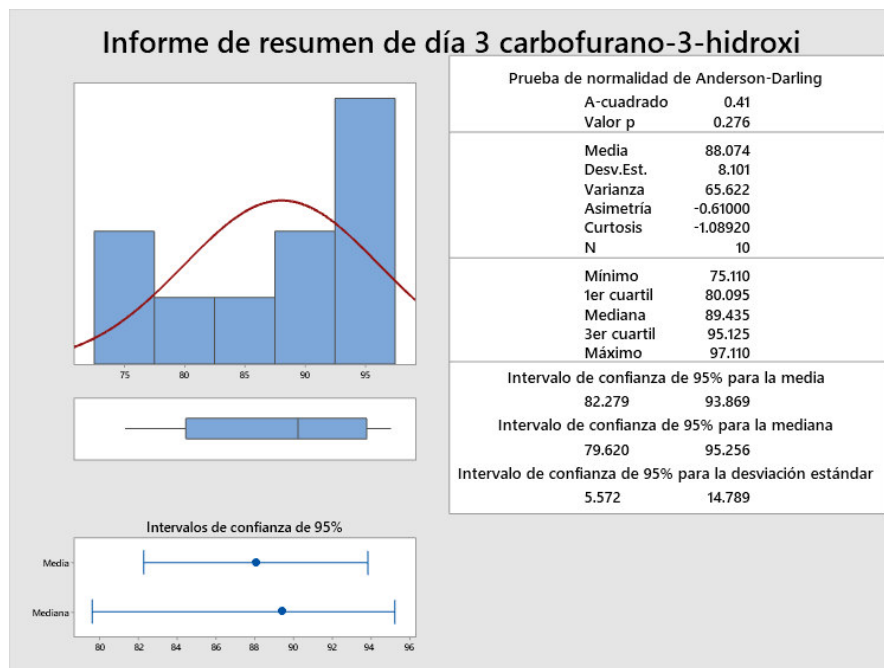
Nota. Si el P-Value $>0,05$ en la prueba Anderson-Darling, indica que los resultados tienen una distribución normal. Histograma, y datos obtenidos del Software MINITAB 19

Figura 69*Resumen Grafico del día 2 Carbofurano-3-hidroxi*

Nota. Si el P-Value $>0,05$ en la prueba Anderson-Darling, indica que los resultados tienen una distribución normal. Histograma, y datos obtenidos del Software MINITAB 19

Figura 70

Resumen Grafico del día 3 Carbofurano-3-hidroxi

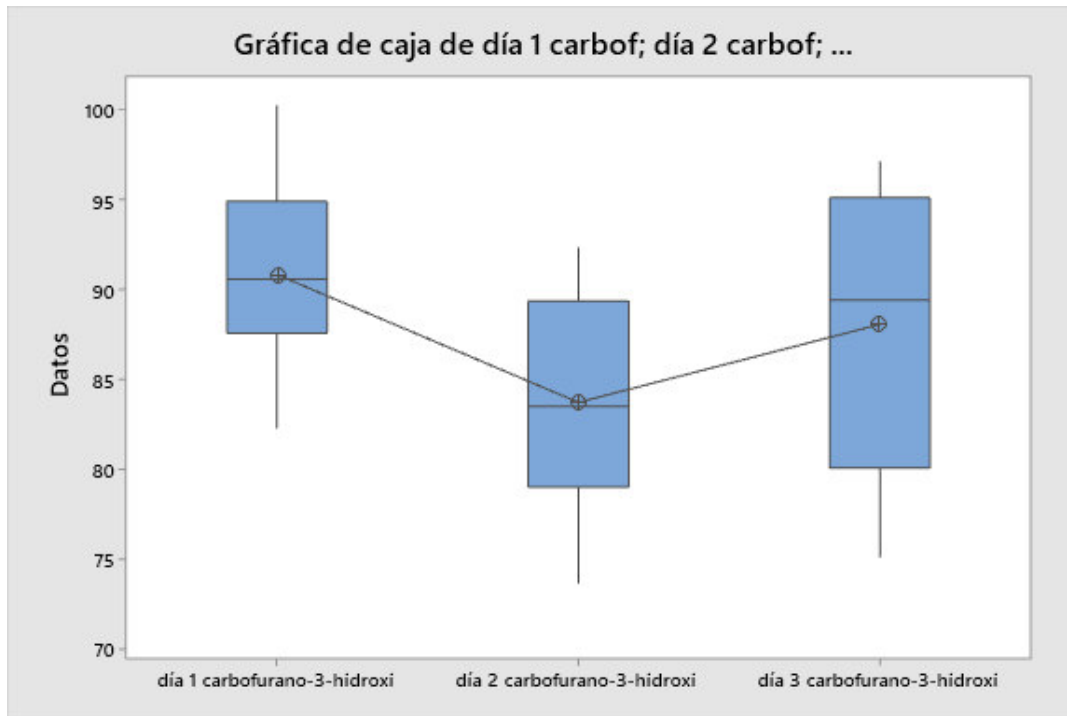


Nota. Si el P-Value $>0,05$ en la prueba Anderson-Darling, indica que los resultados tienen una distribución normal. Histograma, y datos obtenidos del Software MINITAB 19

Se procedió con la prueba ANOVA

Figura 71

Comparación de medias con ANOVA caso Carbofurano-3-hidroxi



Nota. Si los datos tienen distribución normal y son más de tres grupos de muestra, se procede a realizar el ANOVA. Se aprecia en el diagrama de cajas que tienen medias parecidas.

Diagrama de cajas obtenidos del Software MINITAB 19

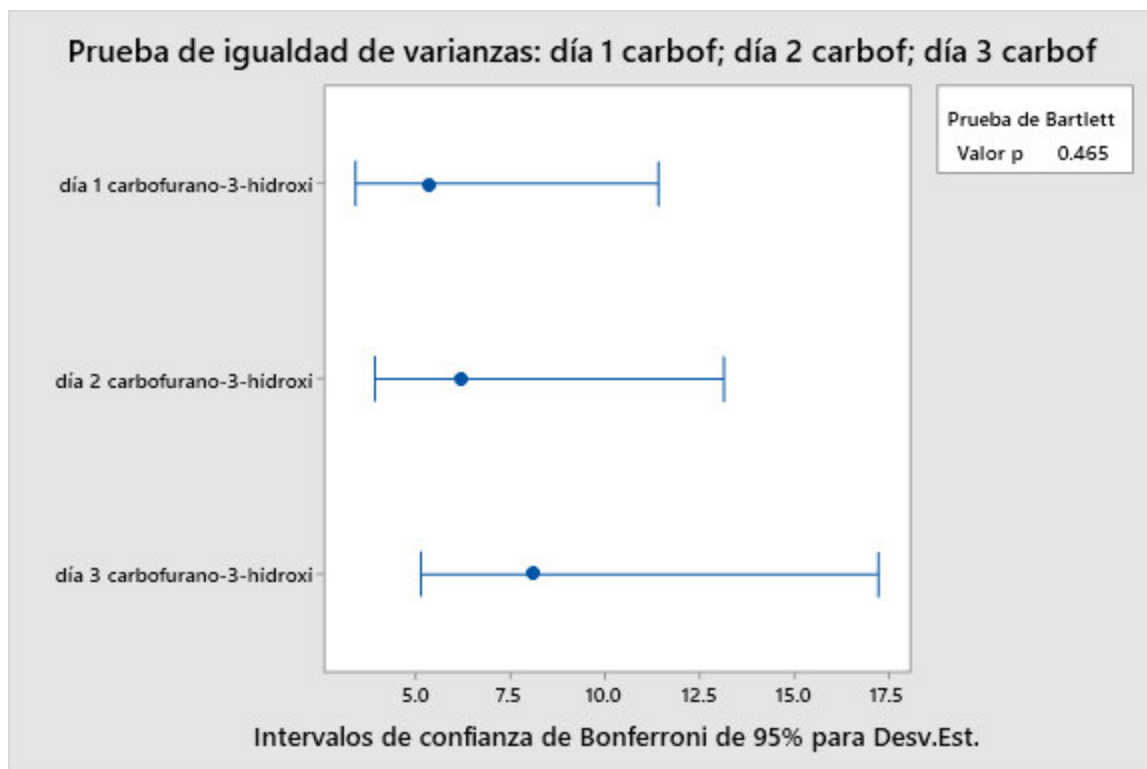
tabla 29

$p\text{-value} > 0,05$ afirmando que las medias son iguales

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Factor	2	257,0	128,52	2,91	0,072
Error	27	1194,4	44,24		
Total	29	1451,5			

Figura 72

Prueba de igualdad de varianzas caso Carbofurano-3-hidroxi



Nota. Si los datos tienen distribución normal entonces se aplica la prueba de Bartlett para la igualdad de varianzas, si el p-value > 0,05 entonces las varianzas son iguales. Diagrama obtenido del Software MINITAB 19

3.1.2.3 Límites de detección y cuantificación

Usando las ecuaciones de las rectas obtenidas desde la fig. 23 hasta la fig. 37 y reemplazándolas en las ecuaciones [31] y [32] se calcula teóricamente el LD y el LC.

- **Aldicarb**

Tabla 30

Datos de a (punto de corte entre la recta con el eje de las ordenadas) y b (pendiente) de las curvas de aldicarb en los 3 días

	a	b
día 1	4923,21	3563,46
día 2	6748,48	3173,05
día 3	2874,73	3078,63
Promedio	4848,81	3271,71
Desviación Estándar(a)	1937,94	

Calculo del Límite de Detección LD y el Límite de Cuantificación LC en ng/mL

$$LD = \frac{3(1937,94)}{3271,71} = 1,78 \quad [33]$$

$$LC = \frac{10(1937,94)}{3271,71} = 5,92 \quad [34]$$

- **Aldicarb Sulfona**

tabla 31

Datos de a (punto de corte entre la recta con el eje de las ordenadas) y b (pendiente) de las curvas de aldicarb Sulfona en los 3 días

	a	b
día 1	38298,27	18357,30
día 2	36263,07	18267,79
día 3	37625,11	18286,95
Promedio	37395,48	18304,02
Desviación Estándar(a)	1036,85	

Calculo del Límite de Detección LD y el Límite de Cuantificación LC en ng/mL

$$LD = \frac{3(1036,85)}{18304,02} = 0,17 \quad [35]$$

$$LC = \frac{10(1036,85)}{18304,02} = 0,57 \quad [36]$$

• **Aldicarb Sulfoxido**

tabla 32

Datos de a (punto de corte entre la recta con el eje de las ordenadas) y b (pendiente) de las curvas de aldicarb Sulfoxido en los 3 días

	a	b
día 1	64150,38	21287,12
día 2	48108,87	18102,72
día 3	48742,45	17217,30
Promedio	53667,23	18869,05
Desviación Estándar(a)	9084,20	

Calculo del Límite de Detección LD y el Límite de Cuantificación LC en ng/mL

$$LD = \frac{3(9084,20)}{18869,05} = 1,44 \quad [37]$$

$$LC = \frac{10(9084,20)}{18869,05} = 4,81 \quad [38]$$

- **Carbofurano**

tabla 33

Datos de a (punto de corte entre la recta con el eje de las ordenadas) y b (pendiente) de las curvas de carbofurano en los 3 días

	a	b
día 1	282945,60	93777,88
día 2	265718,70	98745,35
día 3	195978,70	99358,89
Promedio	248214,33	97294,04
Desviación Estándar(a)	46050,11	

Calculo del Límite de Detección LD y el Límite de Cuantificación LC en ng/mL

$$LD = \frac{3(46050,11)}{97294,04} = 1,42 \quad [39]$$

$$LC = \frac{10(46050,11)}{97294,04} = 4,73 \quad [40]$$

- **Carbofurano-3-hidroxi**

tabla 34

Datos de a (punto de corte entre la recta con el eje de las ordenadas) y b (pendiente) de las curvas de carbofurano-3-hidroxi en los 3 días

	a	b
día 1	49835,55	11577,99
día 2	12376,79	2905,572
día 3	7052,169	3337,374
Promedio	23088,17	5940,312
Desviación Estándar(a)	23316,40	

Calculo del Límite de Detección LD y el Límite de Cuantificación LC en ng/mL

$$LD = \frac{3(23316,40)}{5940,31} = 11,78 \quad [41]$$

$$LC = \frac{10(23316,40)}{5940,31} = 39,25 \quad [42]$$

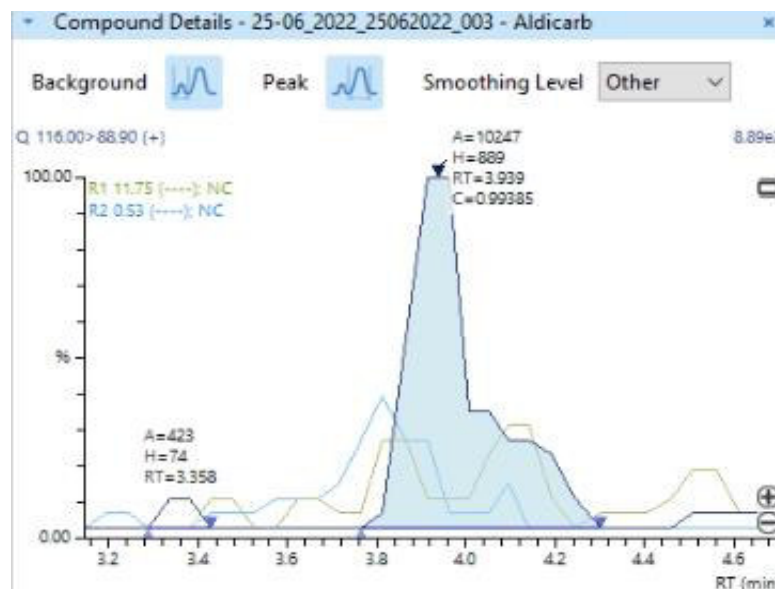
De manera experimental se procedió a verificar los valores obtenidos teóricamente, midiendo las alturas de la señal ruido de la matriz y el pico del analito de interés, y verificar el cumplimiento de la relación de alturas o SN tal como se indicó en la Fig. 17, procediendo hacer una curva baja con puntos de 1, 2, 4 y 5ppb ver figuras (74, 76, 78, 80, 82).

- **Aldicarb**

Altura de la señal ruido y altura del punto de 1ng/mL (Fig 73) el cual sería el LD.

Figura 73

Pico del LD de 1ng/mL



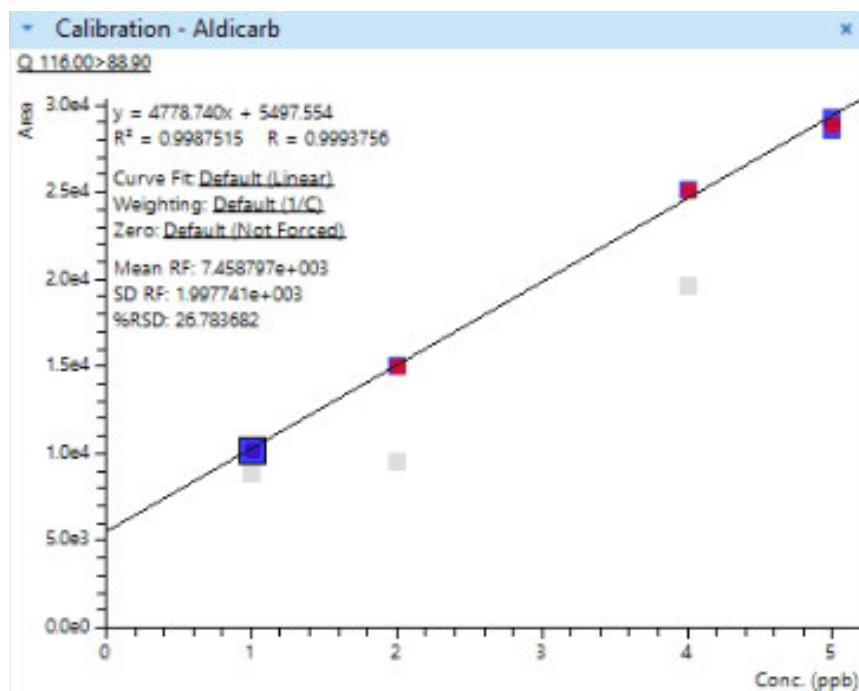
Por lo menos el pico del LD debe ser 3 veces más alto que la altura de la señal ruido.

$$74 * 3 = 222$$

Altura experimental del pico es 889.

Figura 74

Curva baja de Aldicarb desde el LD hasta el LC



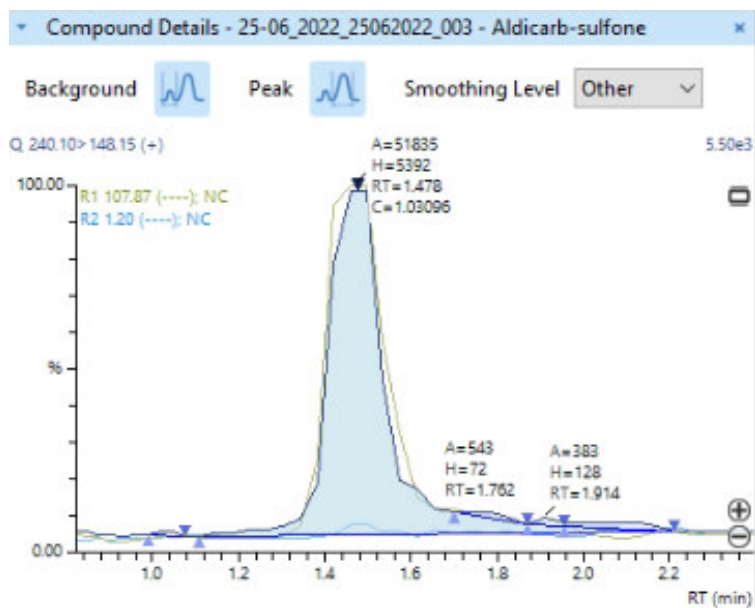
Nota. Los puntos de color plomo son los puntos eliminados, que se encuentran entre el LD y el LC, verificando que la cuantificación entre esos dos puntos no es confiable, demostrando que el LC es la mínima concentración con la cual se puede cuantificar y el LD es la mínima concentración que el equipo puede detectar

- Aldicarb Sulfona

Altura de la señal ruido y altura del punto de 1ng/mL (Fig 75) el cual sería el LD.

Figura 75

Pico del LD de 1ng/mL



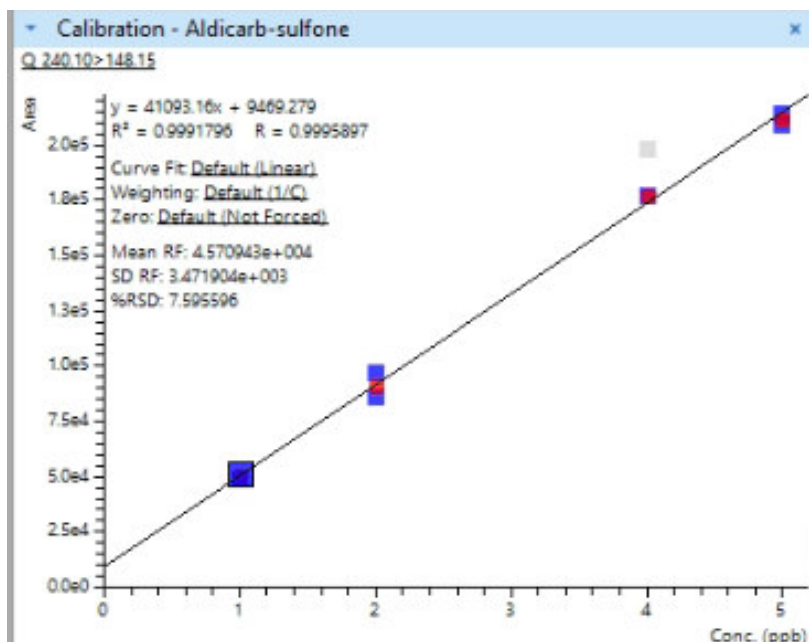
Por lo menos el pico del LD debe ser 3 veces más alto que la altura de la señal ruido.

$$128 * 3 = 384$$

Altura experimental del pico es 5392.

Figura 76

Curva baja de Aldicarb Sulfona desde el LD hasta el LC



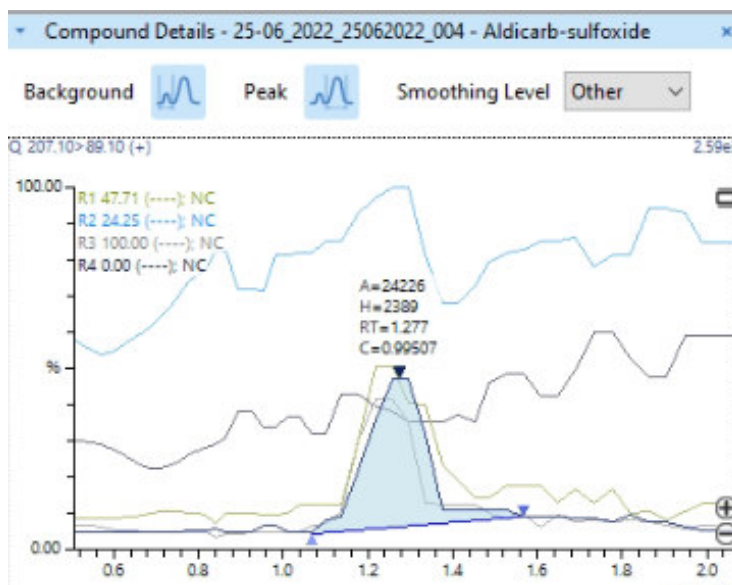
Nota. Los puntos de color plomo son los puntos eliminados, que se encuentran entre el LD y el LC, verificando que la cuantificación entre esos dos puntos no es confiable, demostrando que el LC es la mínima concentración con la cual se puede cuantificar y el LD es la mínima concentración que el equipo puede detectar

- **Aldicarb Sulfóxido**

Altura de la señal ruido y altura del punto de 1ng/mL (Fig 77) el cual sería el LD.

Figura 77

Pico del LD de 1ng/mL



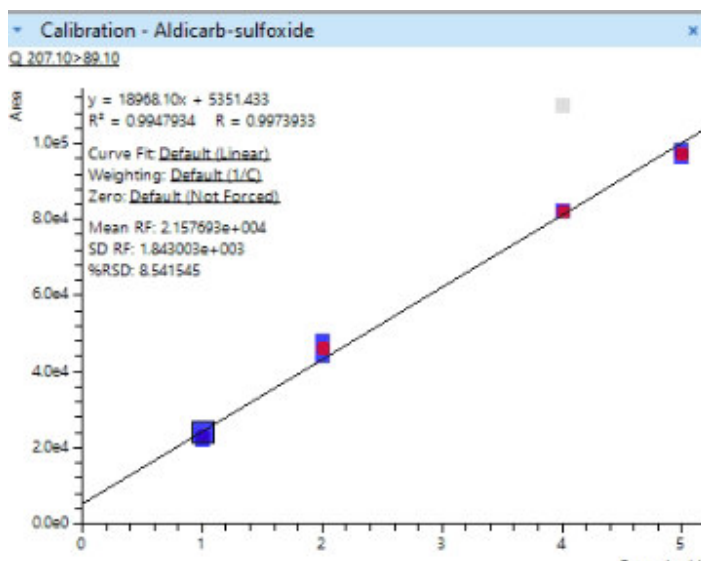
Por lo menos el pico del LD debe ser 3 veces más alto que la altura de la señal ruido.

$$526 * 3 = 1578$$

Altura experimental del pico es 2389.

Figura 78

Curva baja de Aldicarb Sulfóxido desde el LD hasta el LC



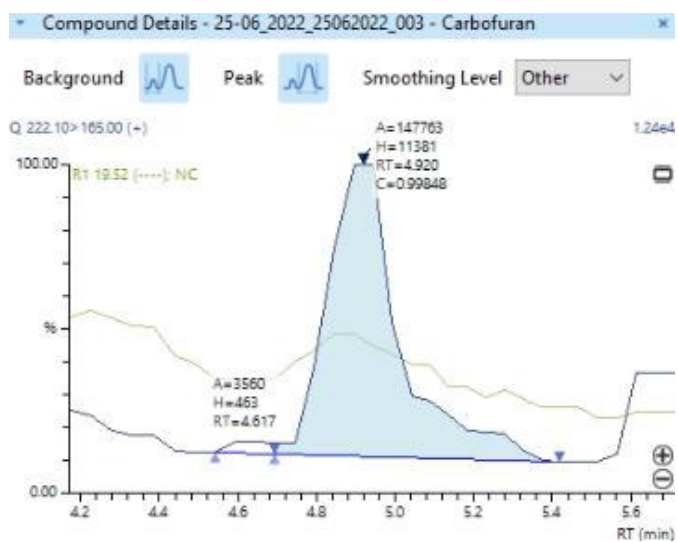
Nota. Los puntos de color plomo son los puntos eliminados, que se encuentran entre el LD y el LC, verificando que la cuantificación entre esos dos puntos no es confiable, demostrando que el LC es la mínima concentración con la cual se puede cuantificar y el LD es la mínima concentración que el equipo puede detectar

- **Carbofurano**

Altura de la señal ruido y altura del punto de 1ng/mL (Fig 79) el cual sería el LD.

Figura 79

Pico del LD de 1ng/mL



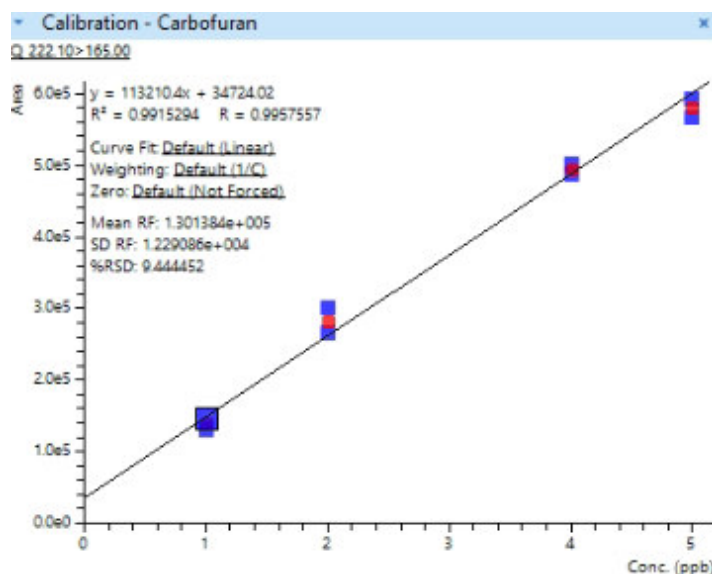
Por lo menos el pico del LD debe ser 3 veces más alto que la altura de la señal ruido

$$463 * 3 = 1389$$

Altura experimental del pico es 11381.

Figura 80

Curva baja de Carbofurano desde el LD hasta el LC



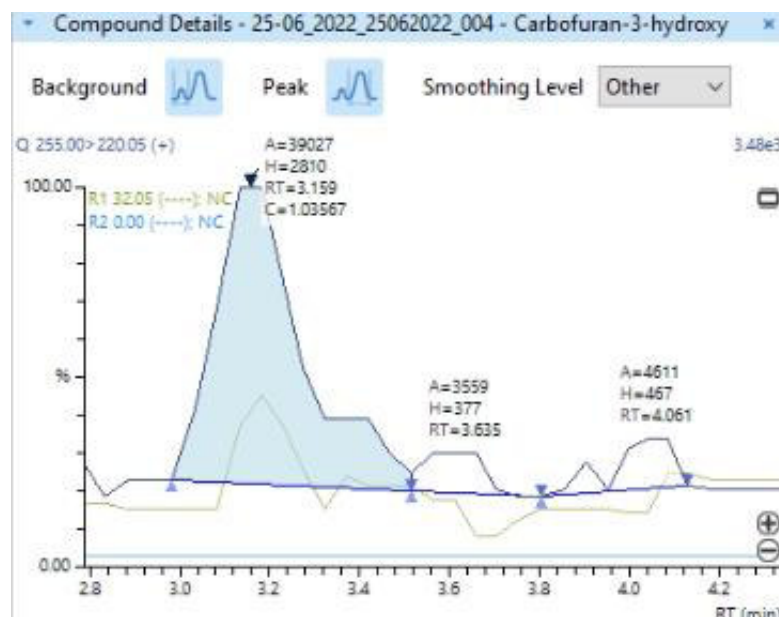
Nota. Los puntos de color plomo son los puntos eliminados, que se encuentran entre el LD y el LC, verificando que la cuantificación entre esos dos puntos no es confiable, demostrando que el LC es la mínima concentración con la cual se puede cuantificar y el LD es la mínima concentración que el equipo puede detectar

- **Carbofurano-3-hidroxi**

Altura de la señal ruido y altura del punto de 1ng/mL (Fig 81) el cual sería el LD.

Figura 81

Pico del LD de 1ng/mL



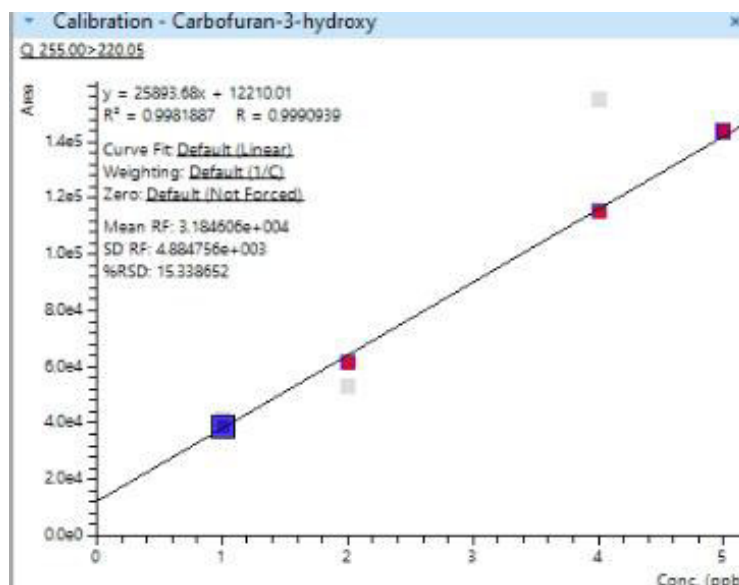
Por lo menos el pico del LD debe ser 3 veces más alto que la altura de la señal ruido

$$422 * 3 = 1266$$

Altura experimental del pico es 2810.

Figura 82

Curva baja de Carbofurano-3-hidroxi desde el LD hasta el LC



Nota. Los puntos de color plomo son los puntos eliminados, que se encuentran entre el LD y el LC, verificando que la cuantificación entre esos dos puntos no es confiable, demostrando que el LC es la mínima concentración con la cual se puede cuantificar y el LD es la mínima concentración que el equipo puede detectar

3.1.2.4 Sensibilidad

La alta sensibilidad queda evidenciada en las figuras (73, 75, 77, 79 y 81), y en los cálculos obtenidos de las relaciones de las alturas de la señal ruido de la matriz con respecto a la altura del pico de cada analito, la diferencia de la sensibilidad de cada analito depende de la pendiente de cada curva

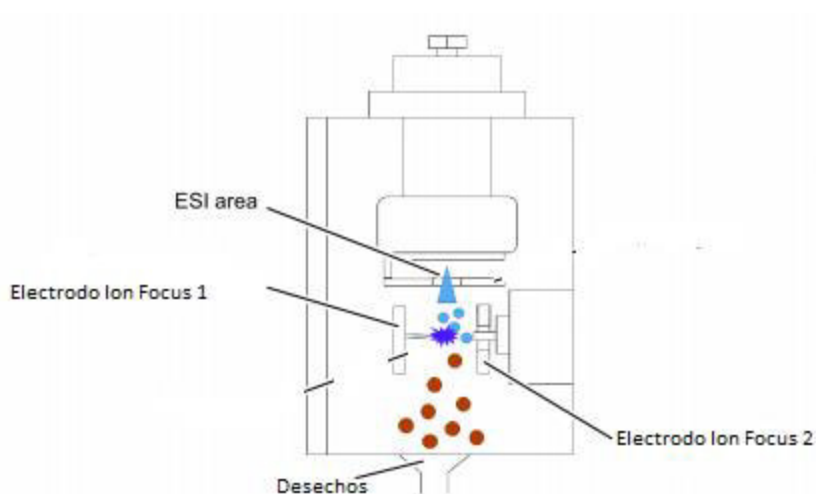
3.1.2.5 Selectividad

En laboratorio se reduce el efecto matriz con el Clean Up con sales de PSA cuya función es eliminar los componentes orgánicos propios de la matriz y Sulfato de Magnesio cuya función es eliminar los restos de agua del suelo.

Cromatográficamente los analitos son separados gracias a la fase móvil y la fase estacionaria dependiendo de la polaridad de cada analito, cuando los analitos son ionizados en la fuente ESI por el High Voltage Supply Fig. 8 pasan a través de los electrodos Ion Focus los cuales focalizan los iones por medio campos eléctricos, reduciendo el efecto matriz. Fig. 83

Figura 83

Focalización de los iones por los electrodos del Ion Focus, seleccionando solo los iones de interés, desechando los componentes del efecto matriz



Nota. Fuente: Ion Focus. Shimadzu. Abril 2020.

Los cromatogramas en función a las transiciones y las masas de los iones también ayudan a la selectividad del método, y los iones ratio de cada analito.

3.1.2.6 Incertidumbre (U)

Los resultados obtenidos en la tabla 20, 22, 24, 26 y 28, están expresados en unidades de curva de ng/mL , debiendo hacer la conversión a peso de suelo en mg/kg .

Convertir ng/mL a $\mu g/mL$, dividiendo la expresión entre 1000.

Convertir $\mu g/mL$ a mg/kg en la siguiente ecuación :

$$C (mg/kg) = \frac{C(\mu g/mL) * V_{ACN} * FD}{W_{(g)}} \quad [43]$$

Siendo: $C (mg/kg)$: Concentración en mg/kg

$C(\mu g/mL)$: Concentración en $\mu g/mL$

V_{ACN} : Volumen agregado de Acetonitrilo (Solvente extractor) 10mL

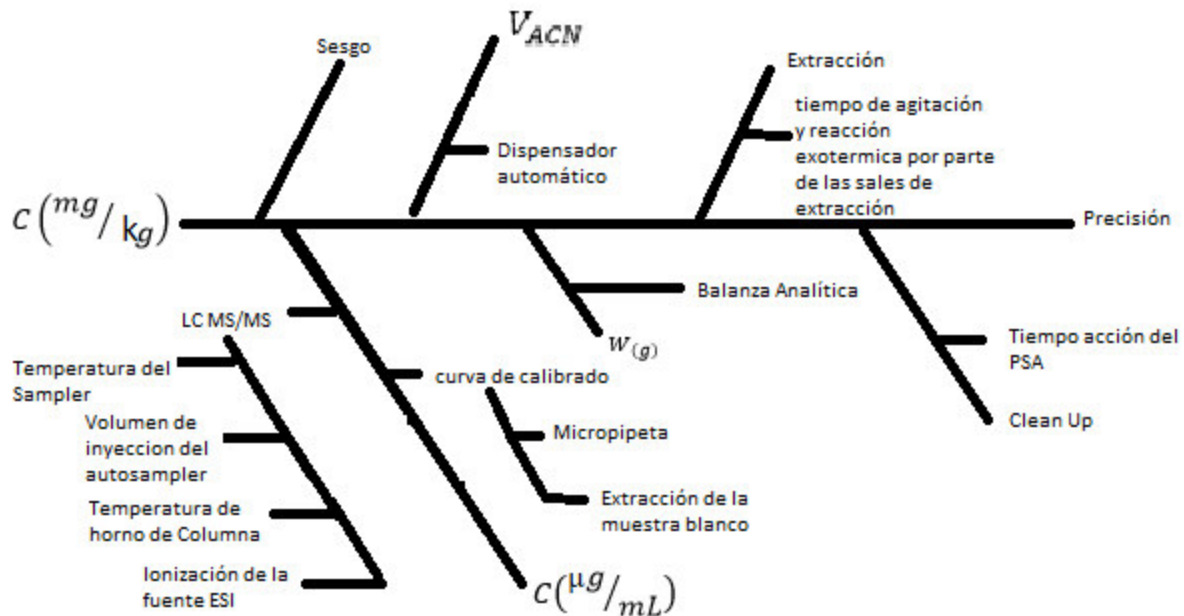
FD : Factor de dilución (aplicar si es necesario)

$W_{(g)}$: Peso de suelo (g)

Para el resultado de $C (mg/kg)$ influyen los factores tales como el equipo LC MS/MS, el V_{ACN} , el cual es dispensado por un dispensador automático con medida de 10mL con su respectiva incertidumbre, y el peso del suelo el cual su peso se va ver afectado por la incertidumbre de la balanza analítica, estos factores son descritos en la figura 84.

Figura 84

Diagrama de Ichikawa para la estimación de la Incertidumbre del resultado C (mg/kg)



Los factores descritos en la Fig. 84 van a ser determinantes para la estimación de la incertidumbre, cada uno de estos factores tienen incertidumbre que afectará a la incertidumbre expandida del método, como se indica en la ecuación [25].

El primer factor que se tomara en cuenta va ser la $C(\mu\text{g}/\text{mL})$ el cual se estimará la incertidumbre del equipo LC-MS/MS, tomando en cuenta también los mínimos cuadrados empleados para hallar las ecuaciones de la recta las cuales hicieron posible la cuantificación de $C(\mu\text{g}/\text{mL})$, mediante la siguiente expresión:

$$U_{C(\mu\text{g}/\text{mL})} = \sqrt{\frac{CME}{b^2} * \left(\frac{1}{n} + \frac{1}{m} + \frac{(C(\mu\text{g}/\text{mL}) - \bar{c})^2}{nS^2} \right)} \quad [44]$$

Siendo: $U_{C(\mu g/mL)}$: Incertidumbre de la $C(\mu g/mL)$

CME : Cuadrado Medio del Error

b^2 : Pendiente de la curva al cuadrado

n : Número de puntos de calibración

m : Número de réplica de cada punto de calibración

\bar{c} : Promedio de las concentraciones de Calibración

S^2 : Variación Estándar de las concentraciones de calibración

Tomando los datos de las tablas 5, 6 y 7, de las curvas de Aldicarb de los tres días diferentes se procede hallar las incertidumbres $U_{C(\mu g/mL)}$:

Tabla 35

Incertidumbres de la concentración $U_{C(\mu g/mL)}$ Aldicarb

Día	$U_{C(\mu g/mL)}$
1	0,00022
2	0,00053
3	5,8E-08

Tomando los datos de las tablas 8, 9 y 10, de las curvas de Aldicarb Sulfona de los tres días diferentes se procede hallar las incertidumbres $U_{C(\mu g/mL)}$:

Tabla 36

Incertidumbres de la concentración $U_{C(\mu g/mL)}$ Aldicarb Sulfona

Día	$U_{C(\mu g/mL)}$
1	9,6E-07
2	0,0017
3	5,9E-09

Tomando los datos de las tablas 11, 12 y 13, de las curvas de Aldicarb Sulfóxido de los tres días diferentes se procede hallar las incertidumbres $U_C(\mu\text{g}/\text{mL})$:

Tabla 37

Incertidumbres de la concentración $U_C(\mu\text{g}/\text{mL})$ Aldicarb Sulfóxido

Día	$U_C(\mu\text{g}/\text{mL})$
1	5,9E-09
2	0,00023
3	1,0E-08

Tomando los datos de las tablas 14, 15 y 16, de las curvas de Carbofurano de los tres días diferentes se procede hallar las incertidumbres $U_C(\mu\text{g}/\text{mL})$:

Tabla 38

Incertidumbres de la concentración $U_C(\mu\text{g}/\text{mL})$ Carbofurano

Día	$U_C(\mu\text{g}/\text{mL})$
1	1,8E-09
2	2,2E-07
3	2,0E-09

Tomando los datos de las tablas 17, 18 y 19, de las curvas de Carbofurano-3-Hidroxi de los tres días diferentes se procede hallar las incertidumbres $U_C(\mu\text{g}/\text{mL})$:

Tabla 39

Incertidumbres de la concentración $U_C(\mu\text{g}/\text{mL})$ Carbofurano-3-hidroxi

Día	$U_C(\mu\text{g}/\text{mL})$
1	1,3E-08
2	0,0024
3	0,0034

El V_{ACN} es otro factor que influye para la estimación de la incertidumbre del método, el volumen que se usa para adicionar a la muestra es de 10mL, el cual es marcada por

un dispensador que tiene una medida mínima de 1 mL y una máxima de 10 mL presentando de esta manera una distribución rectangular el cual tiene un factor de cobertura al 95% de confianza de $\sqrt{3} = 1.73205$, con una tolerancia de 0.05 mL, la incertidumbre de V_{ACN} , se estimaría de la siguiente manera:

$$U_{V_{ACN}} = \frac{\text{tolerancia}}{\sqrt{3}} = \frac{0,05}{1,73} = 0,029 \quad [45]$$

El $W_{(g)}$ es otro factor que influye en la estimación de la incertidumbre del método, la incertidumbre del peso es afectado por la incertidumbre de la balanza la cual está presente en la ecuación 46, teniendo una división de escala mínima de 0.0001, la incertidumbre expandida de la medición:

$$U_{med} = 2 * \sqrt{0,00000000065 + 0,0000000000021 * (W(g))^2} \quad [46]$$

La balanza tiene una distribución normal, por consiguiente, tiene un factor de cobertura de 2 al 95% de confianza, entonces la incertidumbre del peso de la muestra sería la siguiente:

$$U_{W_{muestra}} = \frac{U_{med}}{2} \quad [47]$$

Teniendo los pesos de las muestras analizadas durante los tres días de análisis, se procede hallar sus respectivas incertidumbres:

Tabla 40

Incertidumbres de los pesos de las muestras $U_{Wmuestra}$

Muestras	día 1		día 2		día 3	
	Peso de la muestra (g)	$U_{Wmuestra}$	Peso de la muestra (g)	$U_{Wmuestra}$	Peso de la muestra (g)	$U_{Wmuestra}$
s-i-ad1	2,0156	8,06755E-05	1,9951	8,0674E-05	2,0012	8,0675E-05
s-i-ad2	2,0118	8,06753E-05	1,9960	8,0674E-05	2,0236	8,0676E-05
s-i-ad3	2,046	8,06771E-05	2,0005	8,0675E-05	2,0489	8,0677E-05
s-i-ad4	2,0189	8,06756E-05	2,0356	8,0677E-05	2,0187	8,0676E-05
s-i-ad5	1,9925	8,06743E-05	2,0158	8,0675E-05	2,0264	8,0676E-05
s-i-ad6	2,0256	8,0676E-05	2,0196	8,0676E-05	1,9968	8,0674E-05
s-i-ad7	2,0369	8,06766E-05	2,0010	8,0675E-05	1,9687	8,0673E-05
s-i-ad8	2,0258	8,0676E-05	2,0156	8,0675E-05	2,0285	8,0676E-05
s-i-ad9	1,9789	8,06736E-05	2,0249	8,0676E-05	1,9845	8,0674E-05
s-i-ad10	1,9881	8,0674E-05	1,9998	8,0675E-05	2,0129	8,0675E-05

Se estima la incertidumbre combinada del método Umet, con la siguiente ecuación:

$$U_{Met.} = \sqrt{\left[\frac{U_C \times V_H \times V \times F_d}{W}\right]^2 + \left[\frac{U_V \times V_H \times C \times F_d}{W}\right]^2 + \left[\frac{U_{VH} \times V \times C \times F_d}{W}\right]^2 + \left[\frac{U_{Fd} \times C \times V_H \times V}{W}\right]^2 + \left[-\frac{U_W \times C \times V_H \times V \times F_d}{W^2}\right]^2} \quad [48]$$

En el caso del Aldicarb se procede a estimar la incertidumbre combinada con los datos de la tabla 35 y 40, con la incertidumbre del volumen obtenido de la ecuación [45].

Tabla 41

Incertidumbres combinadas de Aldicarb

Umet día 1	0,001648
Umet día 2	0,002924
Umet día 3	0,001262

En el caso del Aldicarb Sulfona se procede a estimar la incertidumbre combinada con los datos de la tabla 36 y 40, con la incertidumbre del volumen obtenido de la ecuación [45].

Tabla 42

Incertidumbres combinadas de Aldicarb Sulfona

Umet día 1	0,001234
Umet día 2	0,008343
Umet día 3	0,001235

En el caso del Aldicarb Sulfóxido se procede a estimar la incertidumbre combinada con los datos de la tabla 37 y 40, con la incertidumbre del volumen obtenido de la ecuación [45].

Tabla 43

Incertidumbres combinadas de Aldicarb Sulfóxido

Umet día 1	0,001194
Umet día 2	0,001679
Umet día 3	0,001175

En el caso del Carbofurano se procede a estimar la incertidumbre combinada con los datos de la tabla 38 y 40, con la incertidumbre del volumen obtenido de la ecuación [45].

Tabla 44

Incertidumbres combinadas de Carbofurano

Umet día 1	0,001448
Umet día 2	0,001419
Umet día 3	0,001415

En el caso del Carbofurano-3-hidroxi se procede a estimar la incertidumbre combinada con los datos de la tabla 39 y 40, con la incertidumbre del volumen obtenido de la ecuación [45].

Tabla 45

Incertidumbres combinadas de Carbofurano-3-hidroxi

Umet día 1	0,01304
Umet día 2	0,01216
Umet día 3	0,01707

Se procede a convertir la unidad de $\mu\text{g}/\text{mL}$ a mg/kg , usando la ecuación [43]:

De los datos de la tabla 20 se obtienen los resultados mg/kg de Aldicarb:

Tabla 46

Concentraciones mg/kg de Aldicarb en suelos

Código de Muestra	Día 1	Día 2	Día 3
s-i-ad1	0,4478	0,4513	0,4473
s-i-ad2	0,4198	0,4357	0,4385
s-i-ad3	0,4237	0,4362	0,4124
s-i-ad4	0,4309	0,4612	0,4035
s-i-ad5	0,4158	0,4557	0,4131
s-i-ad6	0,4108	0,4513	0,4240
s-i-ad7	0,4455	0,3880	0,4254
s-i-ad8	0,4321	0,4267	0,4584
s-i-ad9	0,3993	0,4122	0,4627
s-i-ad10	0,4411	0,4554	0,4802

De los datos de la tabla 22 se obtienen los resultados mg/kg de Aldicarb Sulfona:

Tabla 47

Concentraciones mg/kg de Aldicarb Sulfona en suelos

Código de Muestra	Día 1	Día 2	Día 3
s-i-ad1	0,4376	0,4519	0,4403
s-i-ad2	0,4220	0,4051	0,4243
s-i-ad3	0,4290	0,4495	0,4150
s-i-ad4	0,4383	0,4240	0,4420
s-i-ad5	0,4160	0,4194	0,4217
s-i-ad6	0,4323	0,4188	0,4135
s-i-ad7	0,4200	0,4044	0,4393
s-i-ad8	0,4160	0,4160	0,4105
s-i-ad9	0,4282	0,4236	0,4442
s-i-ad10	0,4309	0,4352	0,4240

De los datos de la tabla 24 se obtienen los resultados mg/kg de Aldicarb Sulfóxido:

Tabla 48

Concentraciones mg/kg de Aldicarb Sulfóxido en suelos

Código de Muestra	Día 1	Día 2	Día 3
s-i-ad1	0,4247	0,4065	0,4198
s-i-ad2	0,4106	0,4312	0,4181
s-i-ad3	0,4215	0,4248	0,3904
s-i-ad4	0,4172	0,4192	0,4021
s-i-ad5	0,3987	0,4141	0,3974
s-i-ad6	0,4282	0,4246	0,4146
s-i-ad7	0,3923	0,4205	0,4154
s-i-ad8	0,4003	0,4005	0,4026
s-i-ad9	0,4434	0,3950	0,4103
s-i-ad10	0,3931	0,4153	0,3965

De los datos de la tabla 26 se obtienen los resultados mg/kg de Carbofurano:

Tabla 49

Concentraciones mg/kg de Carbofurano en suelos

Código de Muestra	Día 1	Día 2	Día 3
s-i-ad1	0,4962	0,4981	0,4984
s-i-ad2	0,5165	0,4664	0,4649
s-i-ad3	0,4874	0,4808	0,4801
s-i-ad4	0,5124	0,4912	0,4826
s-i-ad5	0,4957	0,4867	0,4737
s-i-ad6	0,5038	0,4944	0,4939
s-i-ad7	0,5007	0,5032	0,5100
s-i-ad8	0,4891	0,5071	0,5054
s-i-ad9	0,5067	0,5061	0,5038
s-i-ad10	0,5019	0,4764	0,4849

De los datos de la tabla 28 se obtienen los resultados mg/kg de Carbofurano-3-Hidroxi:

Tabla 50

Concentraciones mg/kg de Carbofurano-3-Hidroxi en suelos

Código de Muestra	Día 1	Día 2	Día 3
s-i-ad1	0,4084	0,4233	0,4852
s-i-ad2	0,4165	0,3850	0,4325
s-i-ad3	0,4428	0,4577	0,3721
s-i-ad4	0,4431	0,4536	0,4695
s-i-ad5	0,4612	0,3656	0,4632
s-i-ad6	0,4387	0,3993	0,4574
s-i-ad7	0,4720	0,3986	0,4429
s-i-ad8	0,4949	0,4398	0,3703
s-i-ad9	0,4776	0,4286	0,4847
s-i-ad10	0,4557	0,4130	0,4043

El sesgo es un factor que afecta la incertidumbre del método, tomando un factor de referencia para la estimación de la incertidumbre del método, tomando en cuenta el valor de referencia que en este caso es la fortificación de 100 ng/mL, que en mg/kg sería $0,5 mg/kg$, a las muestras blanco, restándolo con el valor obtenido del análisis.

$$U_{sesgo} = |C_o - C_r| \quad [49]$$

C_o : Concentración obtenida

C_r : Concentración de referencia

De los datos obtenidos en la tabla 46 se procede a la estimación de la incertidumbre en el caso del Aldicarb, obteniendo el promedio individual de las concentraciones obtenidas a través de los 3 días diferentes

Tabla 51

Estimación de la Incertidumbre de Sesgo del Aldicarb

	Día 1	Día 2	Día 3
Promedio Individual mg/kg	0,4267	0,4374	0,4365
Promedio Total mg/kg	0,4335		
U_{sesgo}	0,0665		

De los datos obtenidos en la tabla 47 se procede a la estimación de la incertidumbre en el caso del Aldicarb Sulfona, obteniendo el promedio individual de las concentraciones obtenidas a través de los 3 días diferentes

Tabla 52

Estimación de la Incertidumbre de Sesgo del Aldicarb Sulfona

	Día 1	Día 2	Día 3
Promedio Individual (mg/kg)	0,4270	0,4248	0,4275
Promedio Total (mg/kg)	0,4264		
U_{sesgo}	0,0736		

De los datos obtenidos en la tabla 48 se procede a la estimación de la incertidumbre en el caso del Aldicarb Sulfóxido, obteniendo el promedio individual de las concentraciones obtenidas a través de los 3 días diferentes

Tabla 53

Estimación de la Incertidumbre de Sesgo del Aldicarb Sulfóxido

	Día 1	Día 2	Día 3
Promedio Individual (mg/kg)	0,4130	0,4152	0,4067
Promedio Total (mg/kg)	0,4116		
U_{sesgo}	0,0884		

De los datos obtenidos en la tabla 49 se procede a la estimación de la incertidumbre en el caso del Carbofurano, obteniendo el promedio individual de las concentraciones obtenidas a través de los 3 días diferentes

Tabla 54

Estimación de la Incertidumbre de Sesgo del Carbofurano

	Día 1	Día 2	Día 3
Promedio Individual (mg/kg)	0,5010	0,4910	0,4898
Promedio Total (mg/kg)	0,4940		
U_{sesgo}	0,0060		

De los datos obtenidos en la tabla 50 se procede a la estimación de la incertidumbre en el caso del Carbofurano-3-hidroxi, obteniendo el promedio individual de las concentraciones obtenidas a través de los 3 días diferentes

Tabla 55

Estimación de la Incertidumbre de Sesgo del Carbofurano-3-hidroxi

	Día 1	Día 2	Día 3
Promedio Individual (mg/kg)	0,4511	0,4164	0,4382
Promedio Total (mg/kg)	0,4352		
U_{sesgo}	0,0648		

La incertidumbre del analista se estima con la siguiente ecuación:

$$U_{analista} = \sqrt{\frac{s_1^2 \cdot (n-1) + s_2^2 \cdot (n-1) + s_3^2 \cdot (n-1)}{3 \cdot (n-1)}} \quad [50]$$

Las varianzas s_i^2 son varianzas tomadas de los 3 días diferentes y $n= 10$

Siguiendo con el valor de referencia de 0.5 mg/kg Se procede a estimar la incertidumbre de la precisión del analista.

De los datos obtenidos en la tabla 46 se procede a la estimación de la incertidumbre del analista en el caso del Aldicarb.

Tabla 56

Estimación de la Incertidumbre de Analista del Aldicarb

	Día 1	Día 2	Día 3
varianza	0,0002483	0,0005352	0,0006334
$U_{analista}$	0,0134		

De los datos obtenidos en la tabla 47 se procede a la estimación de la incertidumbre del analista en el caso del Aldicarb Sulfona.

Tabla 57

Estimación de la Incertidumbre de Analista del Aldicarb Sulfona

	Día 1	Día 2	Día 3
varianza	6,718E-05	0,0002667	0,0001655
$U_{analista}$	0,00943		

De los datos obtenidos en la tabla 48 se procede a la estimación de la incertidumbre del analista en el caso del Aldicarb Sulfóxido.

Tabla 58

Estimación de la Incertidumbre de Analista del Aldicarb Sulfóxido

	Día 1	Día 2	Día 3
varianza	0,0002867	0,0001312	0,0001055
$U_{analista}$	0,00661		

De los datos obtenidos en la tabla 49 se procede a la estimación de la incertidumbre del analista en el caso del Carbofurano.

Tabla 59

Estimación de la Incertidumbre de Analista del Carbofurano

	Día 1	Día 2	Día 3
varianza	8,7671E-05	0,0001819	0,0002212
$U_{analista}$	0,007786		

De los datos obtenidos en la tabla 50 se procede a la estimación de la incertidumbre del analista en el caso del Carbofurano-3-hidroxi.

Tabla 60

Estimación de la Incertidumbre de Analista del Carbofurano-3-hidroxi

	Día 1	Día 2	Día 3
varianza	0,0007213	0,0008912	0,001838
$U_{analista}$	0,01724		

Se procede a estimar la incertidumbre global con la siguiente ecuación:

$$U_{global} = \sqrt{U_{met}^2 + U_{analista}^2 + U_{sesgo}^2} \quad [51]$$

Y finalmente se procede a estimar la incertidumbre expandida con la siguiente ecuación:

$$U_{expandida} = 2 * U_{global} \quad [52]$$

En el caso del Aldicarb se procede a estimar la incertidumbre global tomando los datos de las tablas 41, 51 y 56.

Tabla 61

Estimación de la Incertidumbre global del Aldicarb

Días	U_{global}	$U_{expandida}$
día 1	0,067	0,14
día 2	0,067	0,14
día 3	0,067	0,14

En el caso del Aldicarb Sulfona se procede a estimar la incertidumbre global y expandida tomando los datos de las tablas 42, 52 y 57.

Tabla 62

Estimación de la Incertidumbre global del Aldicarb Sulfona

Días	U_{global}	$U_{expandida}$
día 1	0,075	0,15
día 2	0,075	0,15
día 3	0,075	0,15

En el caso del Aldicarb Sulfóxido se procede a estimar la incertidumbre global y expandida tomando los datos de las tablas 43, 53 y 58.

Tabla 63

Estimación de la Incertidumbre global del Aldicarb Sulfóxido

Días	U_{global}	$U_{expandida}$
día 1	0,088	0,18
día 2	0,088	0,18
día 3	0,088	0,18

En el caso del Carbofurano se procede a estimar la incertidumbre global y expandida tomando los datos de las tablas 44, 54 y 59.

Tabla 64

Estimación de la Incertidumbre global del Carbofurano

Días	U_{global}	$U_{expandida}$
día 1	0,010	0,020
día 2	0,010	0,020
día 3	0,010	0,020

En el caso del Carbofurano-3-hidroxi se procede a estimar la incertidumbre global y expandida tomando los datos de las tablas 45, 55 y 60.

Tabla 65

Estimación de la Incertidumbre global del Carbofurano-3-hidroxi

Días	U_{global}	$U_{expandida}$
día 1	0,067	0,13
día 2	0,068	0,14
día 3	0,069	0,14

Se procede estimar la incertidumbre global total del Aldicarb y sus metabolitos

Tabla 66

Estimación de la Incertidumbre global total del Aldicarb y sus metabolitos

	Aldicarb	Aldicarb sulfona	Aldicarb sulfóxido
Concentración promedio (mg/kg)	0,4335	0,4264	0,4116
$U_{global\ total}$	0,12	0,13	0,15

Para calcular el contenido de Aldicarb total se procede a multiplicar las concentraciones obtenidas en la tabla 66, con el factor de conversión dado en la tabla 67, de igual

manera se procede con las incertidumbres expandidas obtenidas en las tablas 61, 62 y 63.

Tabla 67

Factores de Conversión de los metabolitos del Aldicarb

Carbamato	metabolito	factor de conversión
Aldicarb	Aldicarb Peso Molecular: 190,27 g/mol	1
	Aldicarb sulfona Peso Molecular: 222,26 g/mol	0,856
	Aldicarb sulfóxido Peso Molecular: 206,26 g/mol	0,922

Los factores de conversión son obtenidos al dividir la masa molecular del aldicarb con la masa molecular del metabolito.

$$Total\ de\ Aldicarb = 1,178 \frac{mg}{Kg} \pm 0,74 \frac{mg}{Kg}$$

Se procede estimar la incertidumbre global total del Carbofurano y su metabolito

Tabla 68

Estimación de la Incertidumbre global total del Carbofurano y su metabolito

	Carbofurano	Carbofurano-3-hidroxy
Concentración promedio (mg/kg)	0,4940	0,4352
$U_{global\ total}$	0,017	0,12

Para calcular el contenido de Carbofurano total se procede a multiplicar las concentraciones obtenidas en la tabla 68, con el factor de conversión dado en la tabla 69, de igual manera se procede con las incertidumbres expandidas obtenidas en las tablas 64 y 65

Tabla 69

Factores de Conversión de los metabolitos del Carbofurano

Carbamato	metabolito	factor de conversión
Carbofurano	Carbofurano Peso Molecular: 221,256 g/mol	1
	Carbofurano-3-hidroxy Peso Molecular: 237,25 g/mol	0,93

Los factores de conversión son obtenidos al dividir la masa molecular del Carbofurano con la masa molecular del metabolito.

$$Total\ de\ Carbofurano = 0,90 \frac{mg}{kg} \pm 0,25 \frac{mg}{kg}$$

3.1.3 Influencia del efecto matriz en los resultados

Es necesario, tener que eliminar cualquier interferencia que proviene de la matriz, que en este caso son los suelos, es por ello que la muestra es sometida a un clean-up, sin embargo, es probable que el extracto aún guarde ciertas interferencias, o cambios cromatográficos con respecto a los analitos, es por ello la necesidad de fortificar o hacer una adición estándar a las muestras, y ver los siguientes aspectos en el cromatograma, como el tiempo de retención de los analitos, es por ello, que se trabajará con el software del equipo, el cual puede abarcar una ventana (rango) de tiempo en donde posiblemente el pico del analito pueda aparecer, es importante que al usar la técnica de espectrometría de masas, poder identificar los analitos presentes en la muestra, guiándose del m/z del ión precursor y los iones producto del analito de interés, este dato es obtenido a partir de la corrida de estándares, el cual se basa en las energías de colisión y las intensidades que participaron en la fragmentación del ión precursor, sin embargo pueden haber componentes que compartan el valor de uno de los iones en cuestión, es por ello que se usa el ión ratio, que es la relación de las áreas de los picos de los iones producto (cuantificación y confirmación), (Kaufmann, A., Butcher, P., *-et al-*2011) la cual debe ser constante o parecido al ión ratio de las muestras, con una aceptación del $\pm 30\%$. (SANTE-2021)

CAPÍTULO 4: RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Análisis e interpretación de resultados.

4.1.1 Parámetros de Validación del método

Para la validación del método se tiene que cumplir con los parámetros de validación los cuales son los siguientes:

- **Linealidad.** La cuantificación de los analitos es realizada mediante la curva de calibración, preparada con extracto de un suelo blanco, teniendo que cumplir un r^2 que tienda a 1, con un 0,99 mínimo como lo sugiere la EURL-2013, como un método originario a matrices de alimentos, pero en el caso de suelos, es una muestra de medio ambiente y basándose a esa matriz tiene que cumplir un mínimo de 0,995 como lo sugiere el EPA (2012), para que cumpla la linealidad, obteniendo los r^2 de cada analito a partir de las figuras 23-37.

Tabla 70

r^2 de todos los analitos en 3 días diferentes

analitos	días	r^2
Aldicarb	1	0,9989
	2	0,9999
	3	0,9995
Aldicarb Sulfona	1	0,9998
	2	0,9992
	3	0,9995
Aldicarb Sulfóxido	1	0,9997
	2	0,9998
	3	0,9998
Carbofurano	1	0,9994
	2	0,9992
	3	0,9989
Carbofurano -3- Hidroxi	1	0,9982
	2	0,9943
	3	0,9992

Como se puede apreciar en la tabla 70, el r^2 de todos los analitos en 3 días diferentes cumple con tener más de 0,99 según la EURL y 0,995 según el EPA, llegando a la conclusión que la metodología con curva en extracto de suelo tiene muy buena linealidad.

- **Precisión y veracidad.** Se trataron muestras de suelos de tres puntos diferentes del país como Piura, Ica y Huancayo, analizándose las muestras obteniendo resultados negativos en todos los analitos en los suelos de Piura codificado como s-p e Ica codificado como s-i, procediendo a pesar 10 veces el suelo de Ica codificado como s-i y fortificando a cada muestra con 100 ng/mL de los analitos de interés.

En las tablas 20, 22, 24, 26 y 28, se puede apreciar que los resultados de las fortificaciones se encuentran dentro del rango de tolerancia del 70% al 120%, este rango de recuperación es sugerido por la EURL-2021 y el EPA 2012, cumpliendo con la veracidad del método.

Se procedió hacer una prueba de la normalidad Anderson-Darling, de los datos obtenidos, con el software MINITAB, al 95% de confianza, teniendo como hipótesis nula que la distribución de los datos tienen una distribución normal y una hipótesis alterna que los datos no tienen una distribución normal, si el $p - value \geq 0,05$ entonces se acepta la hipótesis nula, pero si el $p - value < 0,05$, entonces se rechaza la hipótesis nula, tomando en cuenta la hipótesis alterna, Dallal GE en su libro *The Little Handbook of Statistical Practice* (2012), explica la distribución normal como un histograma (campana de Gauss) simétrica, si los datos experimentales tienden a formar la campana de Gauss en forma simétrica entonces son de distribución normal, pero si es asimétrico, no tiene una distribución normal.

Si los datos tienen una distribución normal se procede hacer la igualdad de medias con ANOVA, para comparar la media de tres grupos de muestras, teniendo como hipótesis nula que las medias de los tres grupos son iguales y una hipótesis alterna que las medias de los tres grupos no son iguales, si se obtiene un $p \geq 0,05$ se acepta la hipótesis nula, pero si $p < 0,05$, Se rechaza la hipótesis nula tomando en cuenta la hipótesis alterna.

Biau DJ, Jolles BM, Porcher R. explican en su libro *P value and the theory of hypothesis testing: an explanation for new researchers* (2010) que el $p = 0,05$, es el nivel de significancia, que se encuentra en la parte de la cola de la campana de Gauss, todo valor que se encuentra dentro del nivel de significancia o es menor a 0,05, rechazando la veracidad de la hipótesis nula, en este caso es 0,05 por que se trabaja al 95% de confianza, pero si el p-value es mayor a 0,05 se encuentra dentro del rango de confianza de 95%, aceptando la veracidad de la hipótesis nula.

Obteniendo estos resultados de las figuras 40, 41 y 42 para el caso del aldicarb que son las pruebas de normalidad Anderson-Darling para los datos de tres días diferentes obteniendo $p_1 - value = 0,644$, $p_2 - value = 0,376$ y $p_3 - value = 0,358$, demostrando que los datos obtenidos tienen una distribución normal al 95% de confianza ya que los valores de $p \geq 0,05$, aceptando la hipótesis nula.

Sabiendo que los datos tienen distribución normal, entonces se procede hacer el ANOVA de los datos en los tres días diferentes, como explica Miller J. y Miller J. en su libro *Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry*, el ANOVA de un factor se usa para separar y estimar distintas fuentes de variación y poder contrastar si las medias de los datos tienen

diferencias significativas, tal como se muestra en la tabla 21, $p = 0,551$, se confirma que las medias de los datos del Aldicarb son iguales, aceptando la hipótesis nula.

Si los datos tienen distribución normal, se procede a realizar la prueba de Barlett (Fig 44) para determinar la precisión de los resultados, confirmándose si el $p - value \geq 0,05$.

Obteniendo como resultado $p - value = 0,613$, confirmando así la precisión del método en caso del Aldicarb.

De la misma manera se procede hacer las mismas pruebas con el Aldicarb Sulfona obteniendo $p_1 = 0,385$, $p_2 = 0,617$ y $p_3 = 0,726$ (ver figuras 47, 48 y 49) de la prueba Anderson Darling, confirmando la normalidad de los datos.

Al confirmar la normalidad de los datos se procede con la prueba ANOVA, confirmando la igualdad de las medias con la tabla 23 con un $p = 0,832$.

Al confirmar la normalidad de los datos se procede a realizar la prueba de Barlett (Fig. 51) confirmando la precisión de los resultados con un $p = 0,262$.

En el caso del Aldicarb Sulfóxido se obtiene $p_1 = 0,533$, $p_2 = 0,379$ y $p_3 = 0,503$ (ver figuras 54, 55 y 56) de la prueba Anderson Darling, confirmando la normalidad de los datos.

Al confirmar la normalidad de los datos se procede con la prueba ANOVA, confirmando la igualdad de las medias con la tabla 25 con un $p = 0,294$.

Al confirmar la normalidad de los datos se procede a realizar la prueba de Barlett (Fig. 58) confirmando la precisión de los resultados con un $p = 0,088$.

En el caso del Carbofurano se obtiene $p_1 = 0,185$, $p_2 = 0,555$ y $p_3 = 0,926$ (ver figuras 61, 62 y 63) de la prueba Anderson Darling, confirmando la normalidad de los datos.

Al confirmar la normalidad de los datos se procede con la prueba ANOVA, confirmando la igualdad de las medias con la tabla 27 con un $p = 0,071$

Al confirmar la normalidad de los datos se procede a realizar la prueba de Barlett (Fig. 65) confirmando la precisión de los resultados con un $p = 0,327$.

En el caso del Carbofurano-3-hidroxi se obtiene $p_1 = 0,779$, $p_2 = 0,956$ y $p_3 = 0,276$ (ver figuras 68, 69 y 70) de la prueba Anderson Darling, confirmando la normalidad de los datos.

Al confirmar la normalidad de los datos se procede con la prueba ANOVA, confirmando la igualdad de las medias con la tabla 29 con un $p = 0,072$

Al confirmar la normalidad de los datos se procede a realizar la prueba de Barlett (Fig. 72) confirmando la precisión de los resultados con un $p = 0,465$.

- **Límite de Detección y Cuantificación.** En el caso del Aldicarb, de manera experimental se halló el LD como se aprecia en la figura 73, teniendo una altura promedio de la señal ruido de 74, y el pico del aldicarb a 1 ng/mL tiene una altura de 889, en donde se acepta el límite de detección porque la altura del analito del LD debe ser por lo menos 3 veces la altura de la señal ruido tal como se menciona en la figura 17 de Rahman H. y Rahman M. (2015) y el LC es por lo menos 10 veces la altura de la señal ruido 74, y el LC de 5 ng/mL tiene una altura de pico de 2471, aceptando el LC.

Bajo el mismo criterio se confirmaría el LD en el caso del Aldicarb Sulfona con LD de 1ng/mL (figura 75) que tiene una altura de 5392 frente a una altura de ruido de 128, aceptando el LD de 1ng/mL y un LC de 5 ng/mL con una altura de 11611 frente a una altura de ruido de 128, aceptando el LC.

En el caso del Aldicarb Sulfóxido con LD de 1ng/mL (figura 77) que tiene una altura de 2389 frente a una altura de ruido de 526, aceptando el LD de 1ng/mL y un LC de 5 ng/mL con una altura de 14024 frente a una altura de ruido de 526, aceptando el LC.

En el caso del Carbofurano con LD de 1ng/mL (figura 79) que tiene una altura de 11381 frente a una altura de ruido de 463, aceptando el LD de 1ng/mL y un LC de 5 ng/mL con una altura de 53507 frente a una altura de ruido de 463, aceptando el LC.

En el caso del Carbofurano-3-hidroxi con LD de 1ng/mL (figura 81) que tiene una altura de 2810 frente a una altura de ruido de 422, aceptando el LD de 1ng/mL y un LC de 5 ng/mL con una altura de 7844 frente a una altura de ruido de 463, aceptando el LC.

- **Sensibilidad.** Según el VIM la sensibilidad depende la pendiente de la curva, si hay más área hay más respuesta, y por ende la pendiente es más alta, y la sensibilidad es alta si la pendiente es alta, es por ello que los cromatogramas (figuras 73, 75, 77, 79 y 81) siendo de concentración de 1ppb tienen unas áreas considerablemente altas, esto indica que hay más respuesta, y que la pendiente sea más alta.

Tabla 71*Pendiente de todos los analitos en 3 días diferentes*

analitos	días	Pendiente
Aldicarb	1	3563,463
	2	3173,049
	3	3078,629
Aldicarb Sulfona	1	18357,33
	2	18267,79
	3	18286,95
Aldicarb Sulfóxido	1	21287,12
	2	18102,72
	3	17217,30
Carbofurano	1	93777,88
	2	98745,35
	3	99358,89
Carbofurano -3- Hidroxi	1	11577,99
	2	2905,572
	3	3337,374

Nota. Estos datos fueron obtenidos de las figuras 23-37

Según la tabla 71, y tomando en cuenta lo que el VIM indica, se puede apreciar que el Aldicarb es el analito menos sensible en este grupo de carbamatos y el carbofurano es el analito con más sensibilidad.

- **Selectividad.** El International Conference of Harmonisation en el 2005, menciona la identificación de las impurezas, y realizar los procedimientos de extracción del analito discriminando los otros componentes de la muestra, siendo así, que el Clean up, un paso necesario, mencionado en la tabla 1 en los antecedentes, y en el presente trabajo elimina las interferencias tales como restos de agua con el $MgSO_4$ y componentes orgánicos con el PSA, en el LC-MS/MS la identificación de impurezas por partes del Ion Focus que se encuentra alrededor del spray generado por el ESI y por medio de campos electromagnéticos focalizar a los iones de interés, desechando los componentes orgánicos propios de la muestra., obteniendo así una alta selectividad en el método.

- **Incertidumbre.** La incertidumbre U se aplica para aumentar la calidad del resultado obtenido y el procedimiento analítico usado, obteniendo una incertidumbre global como se muestra en la ecuación 25 y las incertidumbres combinadas cuya radical de las sumas de sus cuadrados formaría la incertidumbre global multiplicado por 2 a incertidumbre expandida como lo menciona Peris J., *et al.* En el 2013. Obteniéndose las incertidumbres expandidas en la tabla 61-65.

4.1.2 Análisis de Carbamatos en suelos de las ciudades de Piura, Ica y Huancayo

Se tomaron muestras de suelos tal como lo indica La guía de muestreo de suelos del ministerio del ambiente del 2014, siendo detallado en la figura 19, en los siguientes puntos del país (Fig. 85)

Figura 85

Puntos de muestreo de suelos en diferentes partes del Perú



Nota. Modificada de la página Asociación Perú <http://www.pagina-libre.org/asociacion-peru/mapa.html>.

Se analizó el suelo proveniente de la ciudad de Ica con código s-i, y como se aprecia en las figuras 38, 45, 52, 59 y 66, el suelo es negativo en Aldicarb, Aldicarb sulfona, Aldicarb sulfóxido, Carbofurano y Carbofurano-3-hidroxi, respectivamente.

Se analizó el suelo proveniente de la ciudad de Piura con código s-p, y se obtuvieron los siguientes resultados:

Figura 86

Cromatograma de Aldicarb en el suelo proveniente de la ciudad de Piura.

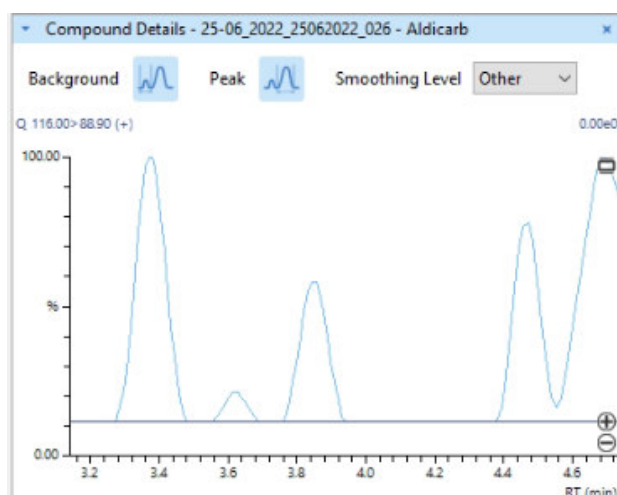
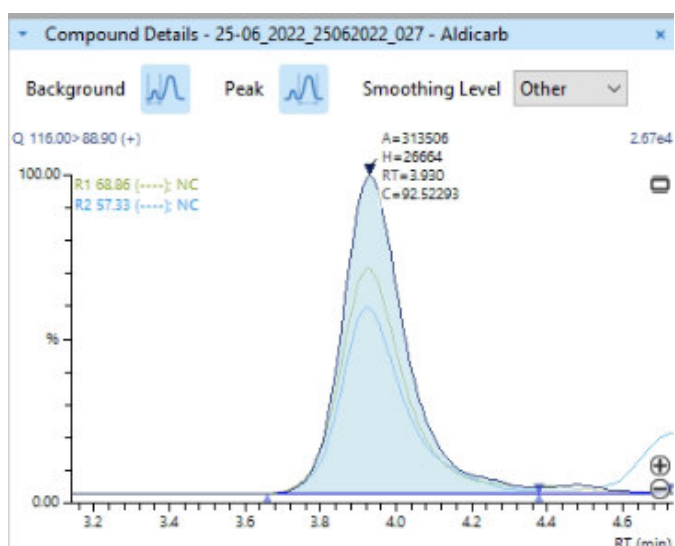


Figura 87

Cromatograma de Aldicarb en el suelo de Piura fortificado con 100 ng/mL.



Como se puede apreciar en el cromatograma del suelo de Piura en caso de Aldicarb Fig. 86, el suelo dio negativo en este carbamato.

Para garantizar la exactitud (veracidad + precisión) en el análisis de este suelo, se procedió a fortificar la muestra del suelo de Piura (código s-p-ad) con 100ng/mL de aldicarb (Fig. 87) y evaluar la veracidad del método según la tolerancia del 70% al 120%, este rango de recuperación es indicado por la EURL-2021 y el EPA 2012.

Tabla 72

Resultados obtenidos de la fortificación de suelo de Piura (código s-p-ad) con Aldicarb

Código de Muestra	Peso de Muestra (g)	resultado Aldicarb (mg/kg)	Valor de referencia (mg/kg)
s-p-ad1	2,0068	0,4610	0,4983
s-p-ad2	1,9989	0,4313	0,5003

Los resultados de las muestras en Aldicarb (mg/kg) con respecto a los valores de referencia que son establecidos a partir de la fortificación de 100 ng/mL en función a su peso, calculado con la ecuación [43], tienen una recuperación de:

Tabla 73

Porcentaje de Recuperación en Aldicarb en muestra de suelo de Piura

Código de Muestra	recuperación %
s-p-ad1	92,52
s-p-ad2	86,20

En la tabla 73 se demuestra que el análisis es veraz porque se encuentra dentro del rango de tolerancia en la recuperación del 70 al 120%.

Para la precisión es necesario hacer el RSD de Horwitz tal como lo menciona Rivera, C. y Rodríguez R.-2014 en la ecuación [20].

De la tabla 72, se toman los resultados obtenidos de Aldicarb (mg/kg) para evaluar su precisión con el RSD de Horwitz.

Tabla 74

Evaluación de la Precisión de datos por RSD de Horwitz

RSD Experimental(%)	RSD HORWITZ(%)
4,77	18,07

De la tabla 74, el RSD experimental es menor al RSD de Horwitz, confirmando la precisión del análisis.

Con las evaluaciones de las tablas 73 y 74, se afirma que los resultados son exactos.

De la misma manera se evalúa la exactitud del análisis de los resultados de los carbamatos restantes.

Figura 88

Cromatograma de Aldicarb Sulfona en el suelo proveniente de la ciudad de Piura.

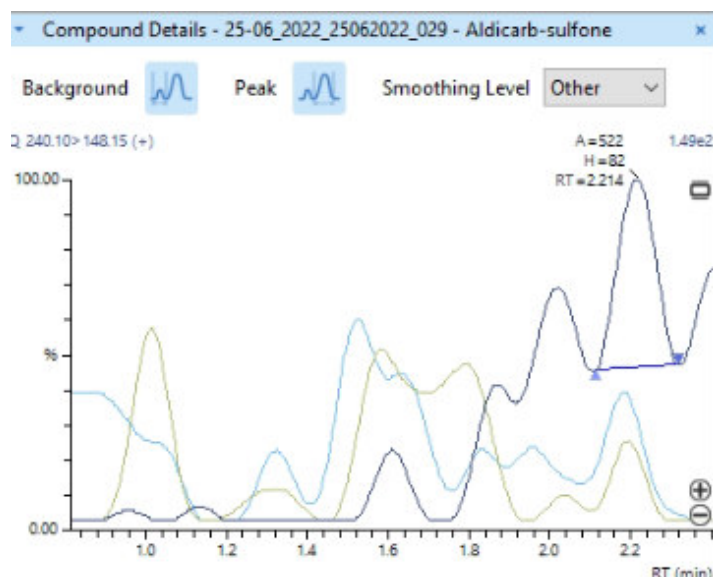
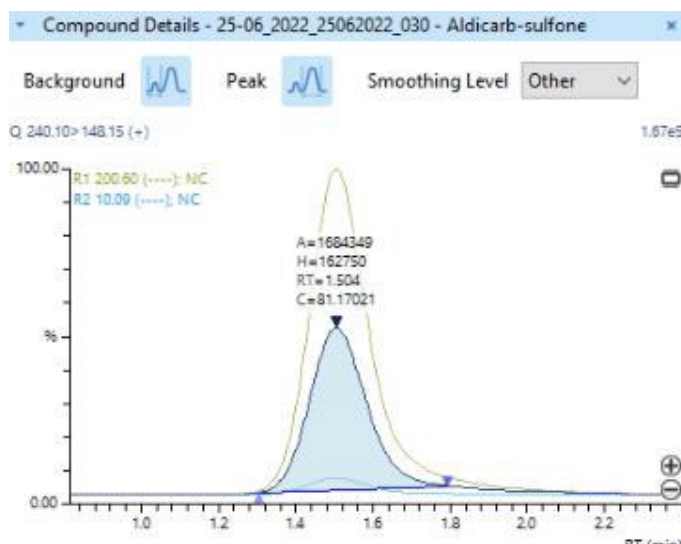


Figura 89

Cromatograma de Aldicarb Sulfona en el suelo de Piura fortificado con 100ng/mL.



Como se puede apreciar en el cromatograma del suelo de Piura en caso de Aldicarb Sulfona Fig. 88, el suelo dio negativo en este carbamato.

Tabla 75

Resultados obtenidos de la fortificación de suelo de Piura (código s-p-ad) con Aldicarb Sulfona

Código de Muestra	Peso de Muestra (g)	resultado Aldicarb Sulfona (mg/kg)	Valor de referencia (mg/kg)
s-p-ad1	2,0068	0,4182	0,4983
s-p-ad2	1,9989	0,4257	0,5003

Tabla 76

Porcentaje de Recuperación en Aldicarb Sulfona en muestra de suelo de Piura

Código de Muestra	recuperación %
s-p-ad1	83,92
s-p-ad2	85,09

En la tabla 76 se demuestra que el análisis es veraz porque se encuentra dentro del rango de tolerancia en la recuperación del 70 al 120%.

De la tabla 75, se toman los resultados obtenidos de Aldicarb Sulfona (mg/Kg) para evaluar su precisión con el RSD de Horwitz.

Tabla 77

Evaluación de la Precisión de datos por RSD de Horwitz

RSD Experimental(%)	RSD HORWITZ(%)
1,25	18,22

De la tabla 77, el RSD experimental es menor al RSD de Horwitz, confirmando la precisión del análisis.

Con las evaluaciones de las tablas 76 y 77, se afirma que los resultados son exactos.

Figura 90

Cromatograma de Aldicarb Sulfóxido en el suelo proveniente de la ciudad de Piura.

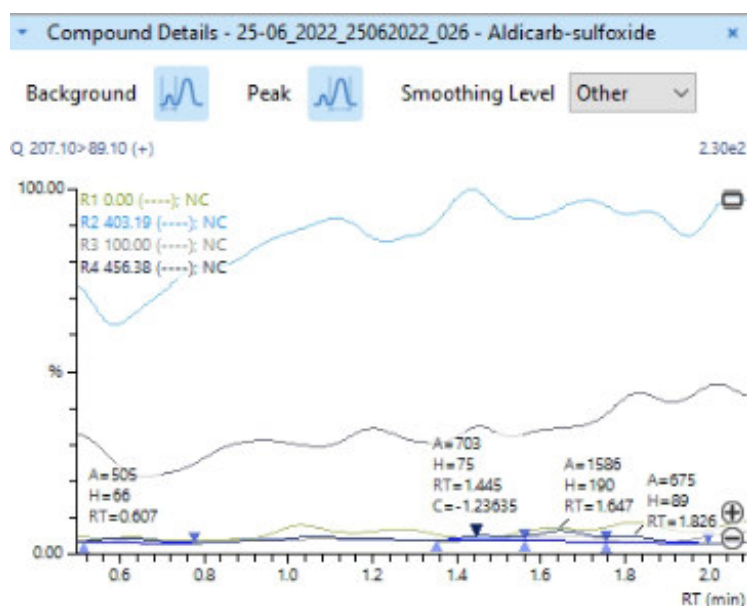
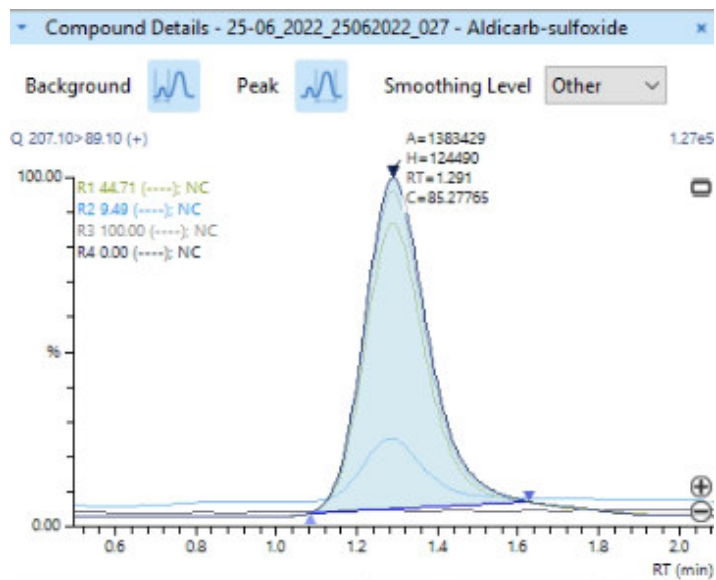


Figura 91

Cromatograma de Aldicarb Sulfóxido en el suelo de Piura fortificado con 100ng/mL.



Como se puede apreciar en el cromatograma del suelo de Piura en caso de Aldicarb Sulfóxido Fig. 90, el suelo dio negativo en este carbamato.

Tabla 78

Resultados obtenidos de la fortificación de suelo de Piura (código s-p-ad) con Aldicarb Sulfóxido

Código de Muestra	Peso de Muestra (g)	resultado Aldicarb Sulfóxido (mg/kg)	Valor de referencia (mg/kg)
s-p-ad1	2,0068	0,4249	0,4983
s-p-ad2	1,9989	0,4287	0,5003

Tabla 79

Porcentaje de Recuperación en Aldicarb Sulfóxido en muestra de suelo de Piura

Código de Muestra	recuperación %
s-p-ad1	85,28
s-p-ad2	85,69

En la tabla 79 se demuestra que el análisis es veraz porque se encuentra dentro del rango de tolerancia en la recuperación del 70 al 120%.

De la tabla 78, se toman los resultados obtenidos de Aldicarb Sulfóxido (mg/Kg) para evaluar su precisión con el RSD de Horwitz.

Tabla 80

Evaluación de la Precisión de datos por RSD de Horwitz

RSD Experimental(%)	RSD HORWITZ(%)
0,62	18,19

De la tabla 80, el RSD experimental es menor al RSD de Horwitz, confirmando la precisión del análisis.

Con las evaluaciones de las tablas 79 y 80, se afirma que los resultados son exactos.

Figura 92

Cromatograma de Carbofurano en el suelo proveniente de la ciudad de Piura.

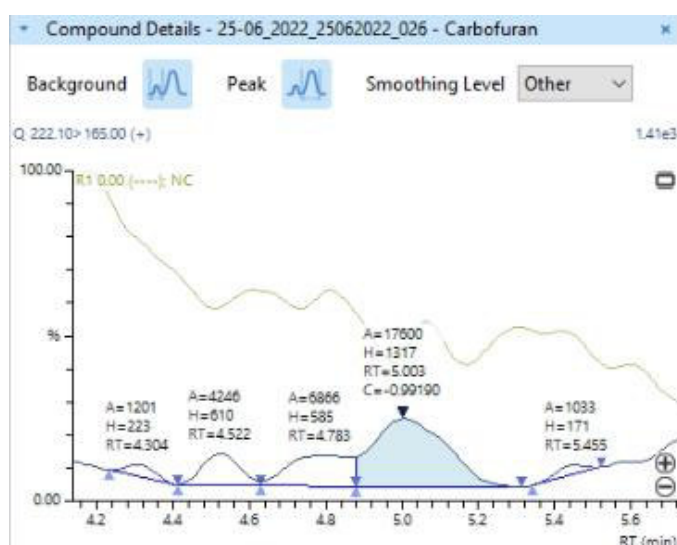
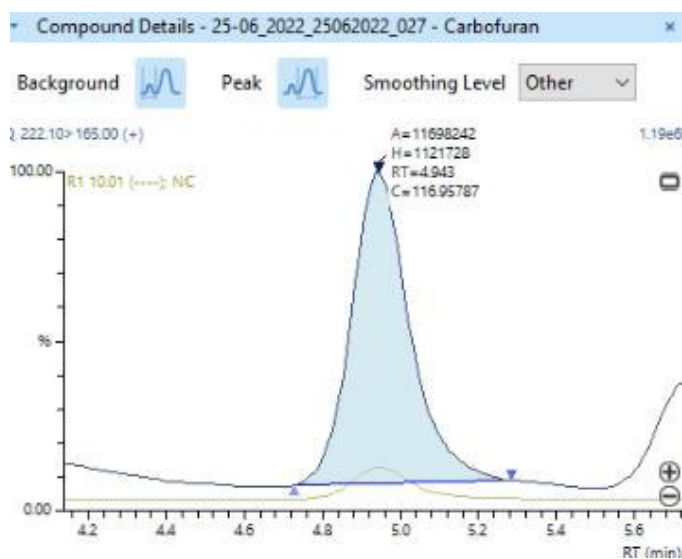


Figura 93

Cromatograma de Carbofurano en el suelo de Piura fortificado con 100 ng/mL.



Como se puede apreciar en el cromatograma del suelo de Piura en caso de Carbofurano Fig. 92, el suelo dio negativo en este carbamato.

Tabla 81

Resultados obtenidos de la fortificación de suelo de Piura (código s-p-ad) con Carbofurano

Código de Muestra	Peso de Muestra (g)	resultado Carbofurano (mg/kg)	Valor de referencia (mg/kg)
s-p-ad1	2,0068	0,5828	0,4983
s-p-ad2	1,9989	0,5707	0,5003

Tabla 82

Porcentaje de Recuperación en Carbofurano en muestra de suelo de Piura

Código de Muestra	recuperación %
s-p-ad1	116,96
s-p-ad2	114,08

En la tabla 82 se demuestra que el análisis es veraz porque se encuentra dentro del rango de tolerancia en la recuperación del 70 al 120%.

De la tabla 81, se toman los resultados obtenidos de Carbofurano (mg/Kg) para evaluar su precisión con el RSD de Horwitz.

Tabla 83

Evaluación de la Precisión de datos por RSD de Horwitz

RSD Experimental(%)	RSD HORWITZ(%)
1,48	17,38

De la tabla 83, el RSD experimental es menor al RSD de Horwitz, confirmando la precisión del análisis.

Con las evaluaciones de las tablas 82 y 83, se afirma que los resultados son exactos.

Figura 94

Cromatograma de Carbofurano-3-hidroxi en el suelo proveniente de la ciudad de Piura.

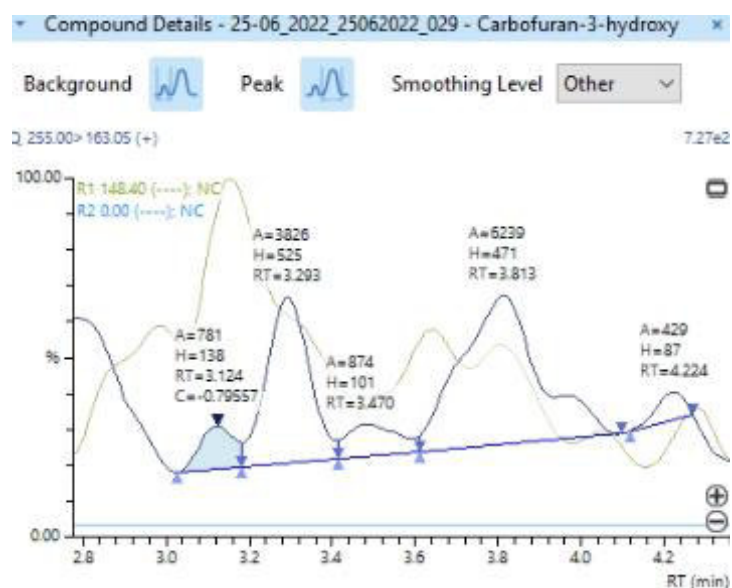
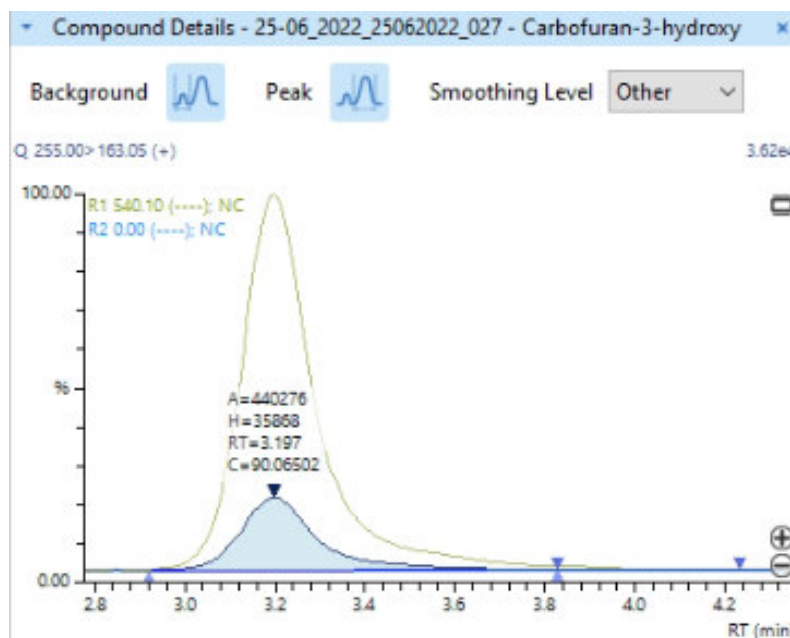


Figura 95

Cromatograma de Carbofurano-3-hidroxi en el suelo de Piura fortificado con 100ng/mL.



Como se puede apreciar en el cromatograma del suelo de Piura en caso de Carbofurano-3-hidroxi Fig. 94, el suelo dio negativo en este carbamato.

Tabla 84

Resultados obtenidos de la fortificación de suelo de Piura (código s-p-ad) con Carbofurano-3-hidroxi

Código de Muestra	Peso de Muestra (g)	resultado Carbofurano -3-hidroxi (mg/kg)	Valor de referencia (mg/kg)
s-p-ad1	2,0068	0,4488	0,4983
s-p-ad2	1,9989	0,4593	0,5003

Tabla 85

Porcentaje de Recuperación en Carbofurano-3-hidroxi en muestra de suelo de Piura

Código de Muestra	recuperación %
s-p-ad1	90,07
s-p-ad2	91,81

En la tabla 85 se demuestra que el análisis es veraz porque se encuentra dentro del rango de tolerancia en la recuperación del 70 al 120%.

De la tabla 84, se toman los resultados obtenidos de Carbofurano-3-hidroxi (mg/Kg) para evaluar su precisión con el RSD de Horwitz.

Tabla 86

Evaluación de la Precisión de datos por RSD de Horwitz

RSD Experimental(%)	RSD HORWITZ(%)
1,64	18,02

De la tabla 86, el RSD experimental es menor al RSD de Horwitz, confirmando la precisión del análisis.

Con los resultados de las evaluaciones de las tablas 85 y 86, se afirma que los resultados son exactos.

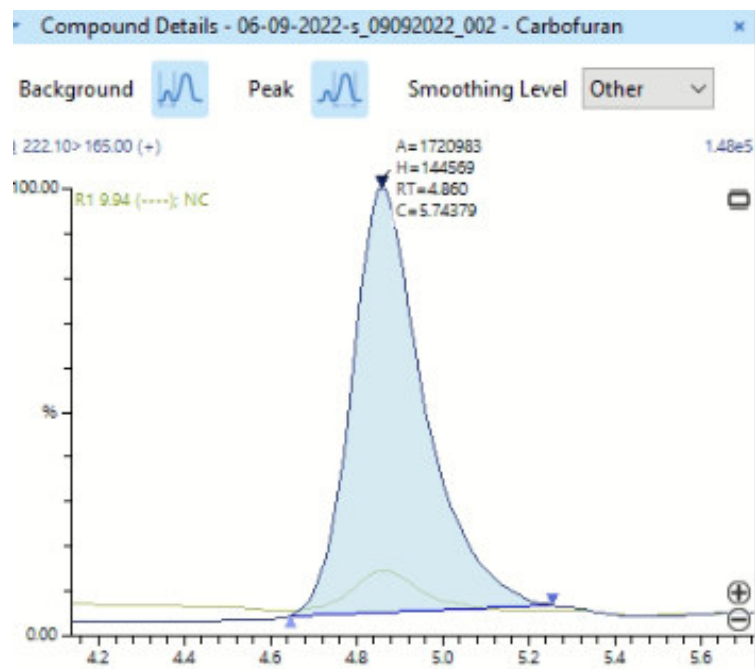
Se analizó el suelo proveniente de la ciudad de Huancayo con código s-h, y se obtuvieron los siguientes resultados:

En el caso del Aldicarb y sus metabolitos, el suelo de Huancayo dio negativo en sus resultados.

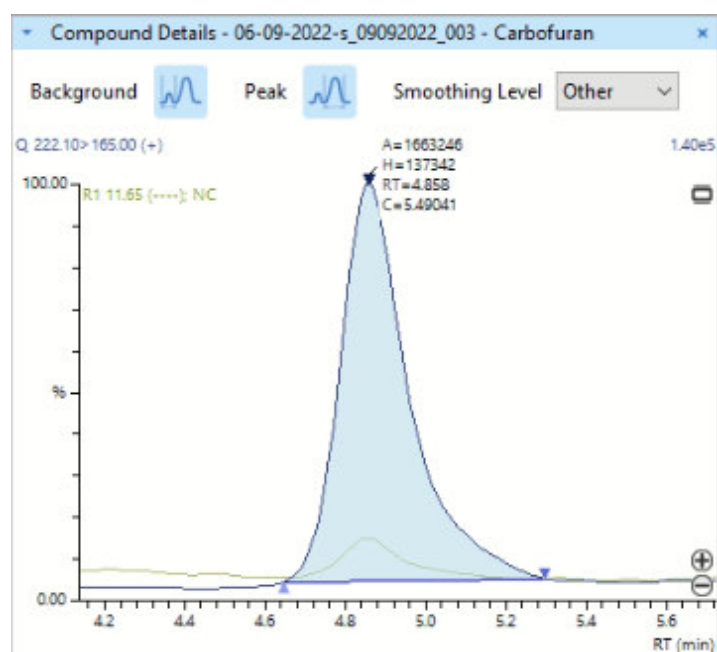
En el caso del Carbofurano y el Carbofurano-3-hidroxi, se obtuvieron los siguientes resultados:

Figura 96

Cromatograma de Carbofurano en suelo de Huancayo (código s-h)

**Figura 97**

Cromatograma de Carbofurano en suelo de Huancayo Duplicado (código s-h-d)



El suelo proveniente de la ciudad de Huancayo, dio positivo en presencia de carbofurano, se confirma la presencia de este carbamato debido al ión ratio y al tiempo de retención.

En el caso del Carbofurano el tiempo de retención en la curva de calibrado fue 4,923 minutos, mientras en la muestra como se aprecia en las fig. 96 y 97, el pico del Carbofurano se encuentra en un tiempo de retención de 4,858, y según la EURL-2021 el tiempo de retención puede tener un intervalo de $\pm 0,1$, y el pico está dentro del intervalo, se obtuvo un ión ratio promedio de 10,83 en los estándares, y el ión ratio obtenido en las muestras fue de 9,94 y 11,65 y como lo explica Kaufmann, A., Butcher, P., - *et all* (2011)., el ión ratio es la herramienta para la confirmación del compuesto con sospecha de presencia en la muestra, entonces se usa este criterio para confirmar la presencia de carbofurano en la muestra y con el rango de $\pm 30\%$ como lo indica la EURL-2021 que sería entre 7,58 hasta 14,079, y los iones ratios obtenidos están dentro del rango indicado, confirmando así la presencia de carbofurano en la muestra de suelo de Huancayo.

Se pesó esta muestra por duplicado, y se obtuvieron los siguientes resultados en mg/kg de Carbofurano, usando la ecuación [43].

Tabla 87

Concentraciones de Carbofurano en mg/kg en muestra de suelo de Huancayo

Código de Muestra	Peso de Muestra (g)	resultado Carbofurano (mg/kg)
s-h	2,0115	0,0286
s-h-d	2,0099	0,0273

Se procede a evaluar la precisión de los resultados obtenidos en la tabla 87 con el RSD de Horwitz.

Tabla 88

Evaluación de la Precisión de datos por RSD de Horwitz caso de Carbofurano en suelos de Huancayo

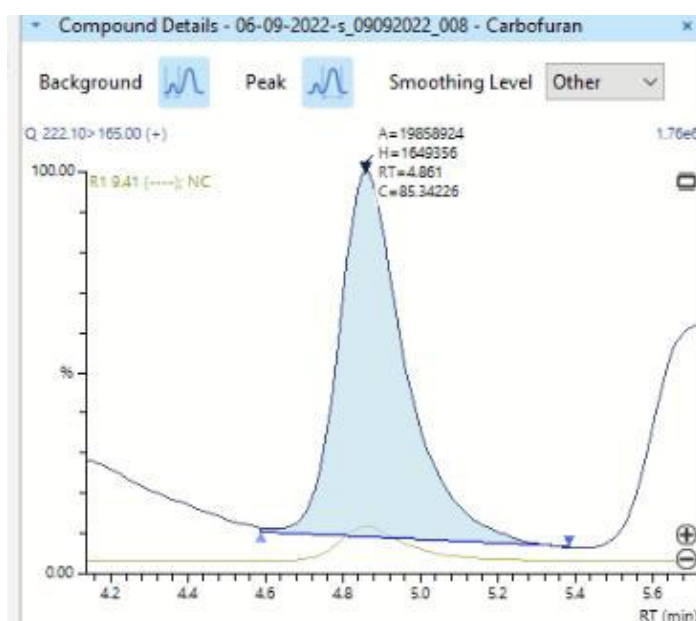
RSD Experimental(%)	RSD HORWITZ(%)
3,13	27,42

Con la tabla 88 se afirma que el análisis tiene una buena precisión debido a que el RSD experimental es menor al RSD de Horwitz.

Se procede a evaluar la veracidad de los resultados con una fortificación de 100 ng/mL a la muestra obteniendo los siguientes resultados:

Figura 98

Cromatograma de Carbofurano en el suelo de Huancayo fortificado con 100 ng/mL (código s-h-ad)

**Tabla 89**

Resultados obtenidos de la fortificación de suelo de Huancayo (código s-h-ad) con Carbofurano

Código de Muestra	Peso de Muestra (g)	resultado Carbofurano (mg/kg)	Valor de referencia (mg/kg)
s-h-ad	2,0005	0,4266	0,5278

El resultado de la fortificación de Carbofurano (mg/kg) con respecto al valor de referencia que son establecidos a partir de la fortificación de 100 ng/mL en función a su peso, calculado con la ecuación [43], tienen una recuperación de 80.825%, que está dentro del rango de 70-120%, indicando que hay veracidad en los resultados obtenidos con respecto al carbofurano en los suelos de Huancayo.

Se estima la incertidumbre del Carbofurano en los suelos de Huancayo que es $\pm 0,0076$ mg/kg.

Como explica Bachman, J. y Patterson, H. (1999) el carbofurano sufre reacciones de oxidación e hidrólisis, lo que conlleva a convertirse en varios metabolitos, uno de ellos es el Carbofurano-3-hidroxi el cual se forma de la oxidación del mismo carbofurano, así como lo explica en el mecanismo de reacción de la figura 3 por Petropoulou, Gikas, Tzarbopoulos, y Siskos (2006), se encontró la presencia de este metabolito en las muestras de suelo de Huancayo.

Figura 99

Cromatograma de Carbofurano-3-hidroxi en suelo de Huancayo (código s-h)

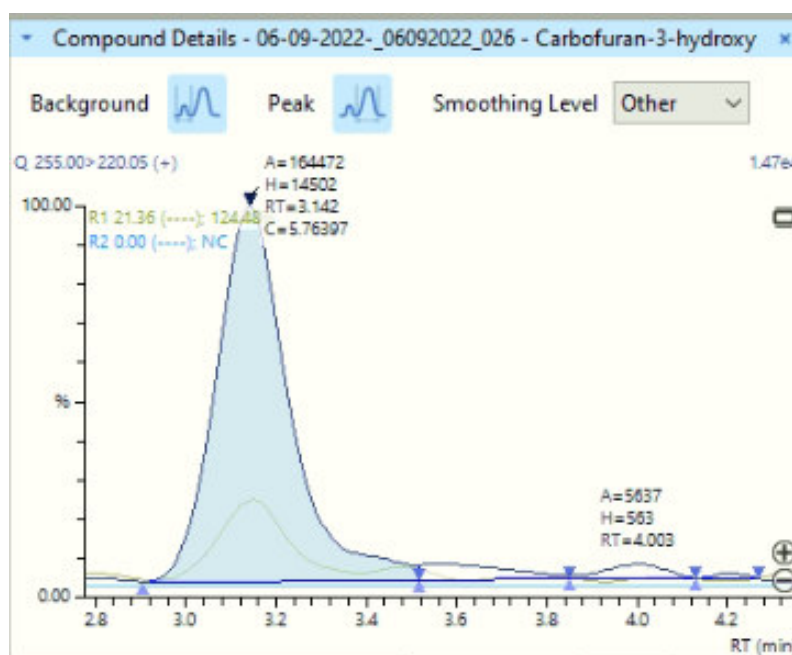
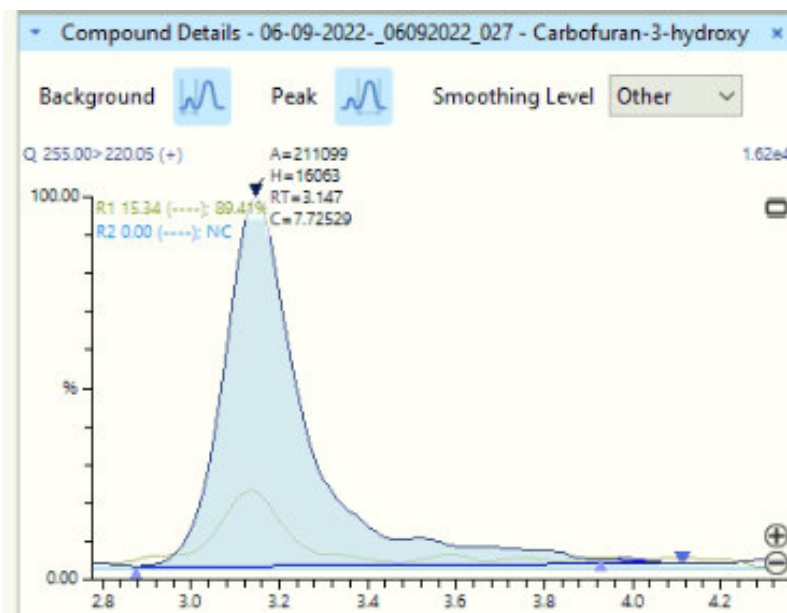


Figura 100

Cromatograma de Carbofurano-3-hidroxi en suelo de Huancayo Duplicado (código s-h-d)



Se confirma la presencia de este metabolito debido al ión ratio y al tiempo de retención. En el caso del Carbofurano-3-hidroxi, el tiempo de retención en la curva de calibrado fue 3,166 minutos, mientras en la muestra como se aprecia en las fig. 99 y 100, el pico del Carbofurano-3-hidroxi, se encuentra en un tiempo de retención de 3,142 y 3,147 respectivamente, estando dentro del intervalo de $\pm 0,1$, se obtuvo un ión ratio promedio de 19,61 en los estándares, y el ión ratio obtenido en las muestras fue de 21,36 y 15,34 confirmando la presencia de carbofurano-3-hidroxi en la muestra y con el rango de $\pm 30\%$ como lo indica la EURL-2021 que sería entre 13,727 hasta 25,493, y los iones ratios obtenidos están dentro del rango indicado, confirmando así la presencia de carbofurano-3-hidroxi en la muestra de suelo de Huancayo.

Se pesó esta muestra por duplicado, y se obtuvieron los siguientes resultados en mg/Kg de Carbofurano-3-hidroxi, usando la ecuación [43].

Tabla 90

Concentraciones de Carbofurano-3-hidroxi en mg/kg en muestra de suelo de Huancayo

Código de Muestra	Peso de Muestra (g)	resultado Carbofurano-3-hidroxi (mg/kg)
s-h	2,0115	0,0286
s-h-d	2,0099	0,0384

Se procede a evaluar la precisión de los resultados obtenidos en la tabla 90 con el RSD de Horwitz.

Tabla 91

Evaluación de la Precisión de datos por RSD de Horwitz caso de Carbofurano-3-hidroxi en suelos de Huancayo

RSD Experimental(%)	RSD HORWITZ(%)
20,62	26,67

Con la tabla 91 se afirma que el análisis tiene una buena precisión debido a que el RSD experimental es menor al RSD de Horwitz.

Se procede a evaluar la veracidad de los resultados con una fortificación de 100 ng/mL a la muestra obteniendo los siguientes resultados:

Figura 101

Cromatograma de Carbofurano-3-hidroxi en el suelo de Huancayo fortificado con 100ng/mL (código s-h-ad)

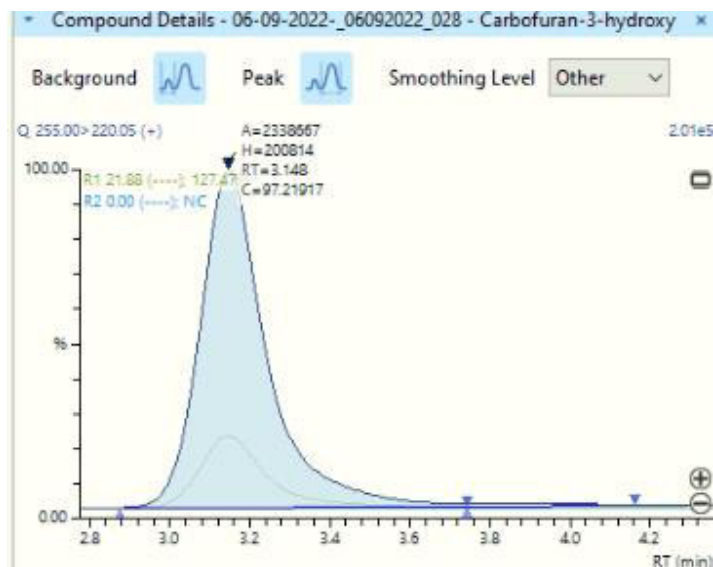


Tabla 92

Resultados obtenidos de la fortificación de suelo de Huancayo (código s-h-ad) con Carbofurano-3-hidroxi

Código de Muestra	Peso de Muestra (g)	resultado Carbofurano-3-hidroxi (mg/kg)	Valor de referencia (mg/kg)
s-h-ad	2,0005	0,4860	0,5334

El resultado de la fortificación de Carbofurano-3-hidroxi (mg/kg) con respecto al valor de referencia que son establecidos a partir de la fortificación de 100 ng/mL en función a su peso, calculado con la ecuación [43], tienen una recuperación de 91,101%, que está dentro del rango de 70-120%, indicando que hay veracidad en los resultados obtenidos con respecto al carbofurano-3-hidroxi en los suelos de Huancayo.

Se estima la incertidumbre del Carbofurano-3-hidroxi en los suelos de Huancayo que es $\pm 0,0089$ mg/Kg.

Para expresar los resultados en función al carbofurano, y tener un aproximado de cuanta cantidad de carbofurano fue aplicado originalmente en el suelo, se procede a multiplicar los resultados obtenidos en base a la relación a las masas moleculares con el factor de conversión hallado en la tabla 69.

$$Total\ de\ Carbofurano\ s - h = 0,059 \frac{mg}{kg} \pm 0,032 \frac{mg}{kg}$$

Este resultado es una cantidad aproximada, ya que el carbofurano continua su proceso de oxidación en donde el grupo OH se oxida a un grupo cetona, así como se muestra en la figura 3 explicado por Petropoulou, Gikas, Tzarbopoulos, y Siskos (2006), llegando a ser el metabolito 3-cetocarbofurano, que es un metabolito, del cual no se tiene disponible el estándar, y es por ello que no se cuantificó, si se tuviera la disponibilidad del estándar del metabolito en mención se podría llegar a una cantidad de carbofurano original más exacta.

Se tomaron las muestras de suelo de la ciudad de Ica, ya que, al no tener antecedentes de aplicación de estos carbamatos, pues facilita al tratamiento estadístico de los datos, con respecto a las adiciones y tener más matriz para futuras curvas de calibrado siendo útil como blanco matriz tan solo en esta familia de pesticidas.

Sin embargo, las muestras de suelo de la ciudad de Piura tienen antecedentes de la aplicación de pesticidas tal como lo menciona Andrea, F. en que el problema social era el manejo deficiente de los pesticidas por parte de los agricultores, al no usar un equipo adecuado, en el 2014, en este trabajo de investigación se recogió la muestra de esta ciudad, mostrando con respecto a la familia de los carbamatos que los suelos de piura están libre del uso de estos pesticidas.

En la ciudad de Huancayo en 1997, como en otras localidades de los andes peruanos, se registró el uso del carbofurano comercialmente conocido como furadan o curater tal

como lo menciona Lazo C. y Gamboa N., así como el uso inadecuado de los pesticidas como lo menciona Montoro Y. *et al* en el 2009, en este trabajo de investigación se recogió la muestra en la localidad de Chupaca cercana a Huancayo región Junín, en donde aún se usa el carbofurano, comúnmente conocido como Vombax, ya no siendo circulado como Furadan o Curater, aún sigue siendo usado en los cultivos de papa.

La PAN Alemania (Pesticide Action Network International) considera al carbofurano, dentro de su lista pesticidas altamente peligrosos en el 2021, por lo cual la UE lo tiene prohibido.

En síntesis y según el estudio realizado en el presente trabajo de investigación se puede apreciar que en los campos de cultivo de Piura e Ica cumple con lo establecido por la Unión Europea del no uso de los carbamatos, ya que son fundos que exportan sus productos hacia Europa; sin embargo, en los campos de cultivo como de la papa en el centro del país todavía se usa el carbamato como el carbofurano lo que es altamente tóxico, y estos productos son para distribución nacional.

4.2 Prueba de Hipótesis

4.2.1 Hipótesis

4.2.1.1 Hipótesis general

El uso de la cromatografía líquida acoplada a masas permite la validación de método de análisis para aldicarb, carbofurano con sus respectivos metabolitos en muestras de suelos.

4.2.1.2 Hipótesis específica

- Se establecen los parámetros de validación según DIRECTRIZ PARA LA VALIDACIÓN DE MÉTODOS DE ENSAYO Código: DA-acr-20D Versión: 00 de un método de análisis de aldicarb, carbofurano y sus respectivos metabolitos en muestras de suelos, usando la cromatografía líquida acoplada a masas.
- El efecto matriz no influye en la identificación y cuantificación del aldicarb, carbofurano y sus respectivos metabolitos en muestras de suelos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Aparicio V., De Gerónimo E., Hernández K., Pérez D., Portocarrero R., y Vidal C. (2015). *Los plaguicidas agregados al suelo y su destino en el ambiente*. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. Argentina. Págs.: 19, 20,21.
2. AB Sciex, (2010). API 5000 TM System. Págs. 13 y 14.
3. Andrea Trama, F. (2014). *Efecto de los plaguicidas utilizados en los cultivos de arroz, sobre las comunidades de macroinvertebrados bentónicos y la calidad de las aguas en la cuenca baja del río Piura*, Perú. (Tesis para optar el grado PhD.). Universidad Agraria de La Molina Págs.: 2-3.
4. Alister, C., Araya, M., y Kogan, M. (2011). Effects of physicochemical soil properties of five agricultural soils on herbicide soil adsorption and leaching. *Ciencia e Investigación Agraria*, 38(2), 243–251.
5. Ahumada, D., Arias, L., y Bojacá, C. (2013). Multiresidue Determination and Uncertainty Analysis of Pesticides in Soil by Ultrafast Liquid Chromatography Coupled to Mass Spectrometry. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 24(7), 1188-1197.
6. AOAC International. (2015). Accuracy, Trueness, Error, Bias, Precision, and Uncertainty: What Do These Terms Mean? *Inside Laboratory Management*, pp. 16-18.
7. Almeida, A., Castel-Branco, M., y Falcão, A. (2002). Linear regression for calibration lines revisited: weighting schemes for bioanalytical methods. *Journal of Chromatography B*, 774(2), 215–222.
8. Baron, R. L. y Merriam, T. L., (1988). Toxicology of aldicarb. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*. 105, 2-70.
9. Barra Caracciolo A., Bottoni P., Crobe A., Fava L., Funari E., Giuliano G. y Silvestri C. (2002). Microbial Degradation of two Carbamate Insecticides and their main Metabolites in Soil. *Chemistry and Ecology Vol. 18(3–4)*, pp. 245–255.

10. Bachman, J. y H. H. Patterson. (1999). *Photodecomposition of the Carbamate Pesticide Carbofuran: Kinetics and the Influence of Dissolved Organic Matter. Environ Sci Technol*, 33:874-881.
11. Basheer, C., Alnedhary, A, Rao, B. y Lee, H. (2009). Determination of carbamate pesticides using micro-solid-phase extraction combined with high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, 1216(2), 211–216.
12. Barwick V. y Prichard E. (2011). Eurachem Guide: Terminology in Analytical measurement-Introduction to VIM. First Edition, p.21.
13. Barwick V., Morillas P., Ellison S., Engman J., Gjengedal E., Oxenbøll U., *et al.* (2014), Eurachem Guide: The Fitness for Purpose of Analytical Methods. A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics, Second Edition. p.30, 31.
14. Biau D., Jolles B., Porcher . (2010). P value and the theory of hypothesis testing: an explanation for new researchers.
15. Bol'shakov, D., Amelin, V., y Tret'yakov, A. (2013). Determination of polar pesticides in soil by micellar electrokinetic chromatography using QuEChERS sample preparation. *Journal of Analytical Chemistry*, 69(1), 89–97.
16. Botitsi, H., Economou, A., y Tsiipi, D. (2007). *Development and validation of a multi-residue method for the determination of pesticides in processed fruits and vegetables using liquid chromatography–electrospray ionization tandem mass spectrometry. Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 389(6), 1685–1695.
17. Dallal G. (2012). *The Little Handbook of Statistical Practice*.
18. Drożdżyński, D. y Kowalska, J. (2009). Rapid analysis of organic farming insecticides in soil and produce using ultra-performance liquid chromatography/tandem mass spectrometry. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 394(8), 2241–2247.
19. EXTOKNET. (2001). Carbofuran. Disponible online <http://ace.ace.orst.edu/info/extoknet/pips/carbofur.htm>

20. Erwin, Nathan. Winter, (1991). *Carbofuran and Bird Kills: Regulation at a Snail's Pace. Journal of Pesticide Reform*. Págs.15-17.
21. Environmental Monitoring Branch Department of Pesticide Regulation. Environmental Fate of Carbofuran.
22. EPA, (2012). Analytical method for [analyte(s)] in [soil, water, air, or other environmental medium].
23. Egea, J. (2009). *Fundamento de la espectrometría de masas en tándem (MS/MS)*. Centro de Bioquímica y Genética Clínica. Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca. España
24. España J. (2013). *Análisis de Residuos de Plaguicidas en Frutas Colombianas de Exportación y Cereales*, Colombia. (Tesis de maestría). Universidad Nacional de Colombia. Pág.: 140.
25. European Medicines Agency. (2011). Guideline on Bioanalytical Method Validation. EMEA/CHMP/EWP/192217/2009 Rev. 1 Corr. 2, pp. 3-23.
26. European Union Reference Laboratory. (2013). Validation data of five selected pesticides using QuEChERS by liquid chromatography tandem mass spectrometry, pp.1-10.
27. European Union Reference Laboratory. (2016). Validation data of 127 pesticides using a multiresidue method by LC-MS/MS and GC-MS/MS in Olive Oil, pp.1-19.
28. European Union Reference Laboratory. (2021). Main changes introduced in Document N° SANTE/11312/2021 with respect to the previous version (Document N° SANTE 12682/2019), pp. 13, 21.
29. Flores, M., Molina, Y., Balza, A., Benítez, P., y Miranda, L. (2011). *Residuos de plaguicidas en aguas para consumo humano en una comunidad agrícola del estado Mérida*, Venezuela. Pág.: 296-297.
30. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). (2012). *Updating the International Code of Conduct on the Distribution and Use of Pesticides*. Roma: FAO, COAG/2012/6. Pág: 8.

31. García, M. (2011). Desarrollo de métodos para el mejoramiento de la capacidad de identificación de péptidos mediante la espectrometría de masas por tiempo de vuelo. (Proyecto de titulación). Escuela Politécnica Nacional, Ecuador. Págs.: 15-16.
32. Getzin, L.W. (1973). *Persistence and Degradation of Carbofuran in Soil*. *Environmental Entomol.* 2 (3): 461-468.
33. Gross, J. H. (2011). *Mass Spectrometry* (Second Edition. Cap. 1. Pág. 1).
34. Gomis, V. (2008). *Técnicas Instrumentales para Análisis Industrial* –RUA- Universidad de Alicante.
35. Goulart, S., Alves, R., Neves, A., de Queiroz, J., de Assis, T., y de Queiroz, M. (2010). Optimization and validation of liquid–liquid extraction with low temperature partitioning for determination of carbamates in water. *Analytica Chimica Acta*, 671(1-2), 41–47.
36. Garrido I., Vela N., Fenoll J., Navarro G., Pérez G., y Navarro S. (2015). Testing of leachability and persistence of sixteen pesticides in three agricultural soils of a semiarid Mediterranean region. *Spanish Journal of Agricultural Research* 13(4): 1-11.
37. Hancock P., Kearney G., Newton A., Alder L. y Klein J. An enhanced lc/ms/ms method for the determination of 81 pesticide residues in fruit and vegetables using the quattro premier mass spectrometer. Germany, pp. 3.
38. Huber L. (2009), *Analytical Instrument Qualification and System Validation. A primer*. Germany, Pág. 18.
39. Horwitz, W. (2000). The Potential Use of Quality Control Data to Validate Pesticide Residue Method Performance, *in Principles and Practices of Method Validation*, A. Fajgelj, A and Ambrus, Ed. The Royal Society of Chemistry,
40. INACAL. (2017). *Directriz para la Validación de Métodos de Ensayo (DA-acr-20D) Vers.00*. Perú. pp.: 1-7.

41. Instituto de Salud Pública. (2010). *Validación de métodos y determinación de la incertidumbre de la medición: Aspectos generales sobre la validación de métodos*. Chile. Págs: 24, 25.
42. International Conference of Harmonisation (ICH). (2005). *Validation of analytical procedures: Text and methodology*, p. 6.
43. ISO/IEC 17025:2005 *General requirements for the competence of testing and calibration laboratories*, Switzerland. Pág. 12.
44. Jury W., y Flühler H. (1992). *Transport of Chemicals through Soil: mechanisms, models, and field applications. Advances in Agronomy Volume 47*. pp.: 142-201.
45. Jiang, Y. y Vaidya, L. (2012). *The Waters Acquity Ultra-Performance Liquid Chromatograph and the Micromass Quattro Premier Triple Quadrupole Mass Spectrometer*. Pág. 5.
46. Kaufmann, A., Butcher, P., Maden, K., Walker, S., & Widmer, M. (2011). *Quantitative and confirmative performance of liquid chromatography coupled to high-resolution mass spectrometry compared to tandem mass spectrometry. Rapid Communications in Mass Spectrometry, 25(7), 979–992*.
47. Lazo C., y Gamboa N. (1997). *Contaminación de Suelos dedicados al cultivo de la papa. Revista de Química VolumenXI*. pp.: 49-57.
48. Lu, H., Lin, Y., y Chris, P. (2009). *Organic-Solvent-Free Extraction Method for Determination of Carbamate and Carbamoyloxime Pesticides in Soil and Sediment Samples. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 83(5), 621–625*.
49. Mason Y., Choshen E., y Rav-Acha C. (1990). *Carbamate Insecticides: Removal from Water by Chlorination and Ozonation*. Pág.: 11. *War. Res. Vol. 24, No. 1*, pp. 11-21, 199.
50. Mariño Gaviria, D. (2013). *Determinación de los plaguicidas Aldicarb, Carbofurano y Metamidofos en sangre provenientes de casos forenses mediante Cromatografía Líquida con Espectrometría de Masas Tándem LC-ESI-MSMS*

- en Cundinamarca, Boyacá y Bogotá.* (Tesis de maestría). Universidad Nacional de Colombia. Pág.: 22.
51. Montoro Y., Moreno R., Gomero L., y Reyes M. (2009). *Características de uso de plaguicidas químicos y riesgos para la salud en agricultores de la sierra central del Perú.*
52. McMaster, M. (2005). *LC/MS A practical User's Guide.* Pág.: 1.
53. Murillo J., García L., y Carrasquero A. (2018). Determination of carbamates in soils by liquid chromatography coupled with on-line postcolumn UV irradiation and chemiluminescence detection. *Arabian Journal of Chemistry*, pp. 1-7.
54. Masiá, A., Vásquez, K., Campo, J., y Picó, Y. (2015). Assessment of two extraction methods to determine pesticides in soils, sediments and sludges. Application to the Túria River Basin. *Journal of Chromatography A*, 1378, 19–31.
55. Ministerio del Ambiente. (2014). *Guía para el Muestreo de Suelos.* (1ª. ed.). Lima, Perú: MINAM.
56. Miller, J. y Miller, J. (2010). *Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry.* Sexta Edición. Capítulo 4. Pág.: 76.
57. Naseema S., Ambily P., Thomas G., Thomas B., Pratheesh N., Pradeep K., et al. (2014). Pesticide Residues in Soils under Cardamom Cultivation in Kerala, India. *Pesticide Research Journal.* Vol. 26(1): 35-41.
58. Ou, L. T., Rao, P. S. C., Edvardsson, K. S. V., Jessup, R. E. y Hornsby, A. G. (1988). Aldicarb degradation in sandy soils from different depths. *Pesticide Science*, pp: 1–12.
59. Otieno, P., Lalah, J., Virani, M., Jondiko, I., y Schramm, K. (2010). Soil and water contamination with carbofuran residues in agricultural farmlands in Kenya following the application of the technical formulation Furadan. *Journal of Environmental Science and Health, Part B*, 45(2), 137–144.

60. Pesticide Action Network International (PAN). (2021). Lista de Pesticidas Altamente Peligrosos.
61. Prieto F., Cortés S., Gaytan J., Ceruelo A., y Vazquez P. (2012). *Pesticides: classification, uses and toxicity. Measures of exposure and genotoxic risks*, México. Págs.: 280, 281.
62. Parcasio C., Lizano A., y Pythias M. (2014). Challenges of a HPLC-UV Analysis of Methomyl, Carbofuran and Carbaryl in Soil and fresh Water for Degradation Studies. *International Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences (IJPBCS)*. 3(3).15-22.
63. Peris J., Carda S., Esteve J., Rambla M., Bose D., Beltrán B., *et al* (2013). Validation of micellar LC-based methods applied to analyze foodstuffs. *Bioanalysis*, 5(4), 481–494.
64. Peris J., Carda S. y Esteve J. (2015). Validation of Analytical Methods Based on Chromatographic Techniques: An Overview. *Analytical Separation Science*, pp: 1757-1808.
65. Rogatsky E. y Stein D. (2005). Evaluation of Matrix Effect and Chromatography Efficiency: New Parameters for Validation of Method Development. *Journal of the American Society for Mass Spectrometry*, pp.1757-1759.
66. Rahman H., y Rahman M. (2015). Estimation of Limit of Detection (LOD), Limit of Quantification (LOQ) and Machine Standardization by Gas Chromatography. H. Rahman and M. M. R. 19(2): 55-65.
67. Rivera C. y Rodriguez R. (2014). Horwitz equation as quality benchmark in ISO/IEC 17025 testing laboratory. Pág: 2.
68. Rowley A. (2001). Evaluating Uncertainty for Laboratories, A Practical Handbook versión 1.
69. Romero, A. (2002). Cromatografía Curso de métodos. Instituto de biotecnología UNAM, Pág.: 2.

70. Skoog, A., Holler, J., y Nieman, T. (2001). *Principios de Análisis Instrumental*. Quinta Edición. Capítulo 26. Págs.: 730, 731, 733, 734, 735.
71. Silcock, P., Booth, B., Morphet, J., Riches, E. y Hancock, P. Waters Corporation. (2010). Ultra-Sensitive Detection of Pesticides in Drinking Water with a Simple, Rapid, and High Quality Analysis, Manchester, UK. Págs.: 2,3, 5.
72. Schmitz, O. (2016). UHPLC and Mass Spectrometry. *The HPLC Expert*, Edited by Kromidas, S, pp. 17-35.
73. Shimadzu (2020). Atmospheric pressure ionization Interface. Ion Focus Unit, pp.6,7, 43
74. Shimadzu (2020). Espectrómetro de Masas de Cromatografía Líquida de Alto Rendimiento. LCMS-8060NX, pp.28, 29
75. Standing Committee for Quality and Competence (QCC). (2014). Guidelines for the single laboratory Validation of Instrumental and Human Based Methods in Forensic Science. *Validation of Qualitative, Quantitative and Comparative Methods*. Version 2.0, pp. 2-30.
76. Shrivastava, A., y Gupta, V. (2011). Methods for the determination of limit of detection and limit of quantitation of the analytical methods. *Chronicles of Young Scientists*, 2(1), pp. 21-25.
77. Trotter, D., R. Kent, y M. Wong. (1991). Aquatic Fate and Effect of Carbofuran. *Crit Rev in Environ Cont*, 21(2):137-176.
78. THERMO. (2008). *Sonda HESI-II Guía del usuario*. Pág.:1-3.
79. Thompson, M., Ellison, S. L. R., y Wood, R. (2002). Harmonized guidelines for single-laboratory validation of methods of analysis (IUPAC Technical Report). *Pure and Applied Chemistry*, 74(5), 835–855.
80. Thompson, M. (2000). Towards a unified model of errors in analytical measurement. *The Analyst*, 125(11), 2020–2025.
81. USP 40 – NF 35, General Chapter 1225, Validation of Compendial Procedures, 2009.

82. Valencia Y., Potosí S., Valencia E., y Bravo I. (2010). Validación de una Metodología para la Determinación de Carbofuran en Suelos mediante Cromatografía Líquida de Alta Eficiencia con detección Ultravioleta (CLAR-UV). *Revista Colombiana de Química*, Vol. 39, N°3, 359-370.
83. Vander Y., Nijhuis A., Smeyers J., Vandeginste B., y Massart D. (2001). Guidance for robustness/ruggedness tests in method validation. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 24(5-6), 723–753.
84. Wittrig B., y Schreiber A. (2011). Comprehensive Pesticide Residue Analysis by LC/MS/MS. Págs. (1-4)
85. Yu, X., Ying, G., y Kookana, R. (2009). Reduced plant uptake of pesticides with biochar additions to soil. *Chemosphere*, 76(5), 665–671.
86. Yang, L., Chen, S., Hu, M., Hao, W., Geng, P., y Zhang, Y. (2011). Biodegradation of carbofuran by *Pichia anomala* strain HQ-C-01 and its application for bioremediation of contaminated soils. *Biology and Fertility of Soils*, 47(8), 917–923.
87. Yusiasih, R., Efendi, Pitoi, M. M., y Hariyadi, H. R. (2018). Residual pesticides monitoring of the horticulture soil in Lembang. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, 160, 012023.
88. Zhou, S., Chen, H., Wu, B., Ma, C., y Ye, Y. (2011). Sensitive determination of carbamates in fruit and vegetables by a combination of solid-phase extraction and dispersive liquid-liquid microextraction prior to HPLC. *Microchimica Acta*, 176(3-4), 419–427.
89. Zhu R., Yan L., Guo L., Yong Y., Xiao W., Yi W. y Ran G. (2014). Determination of Carbamate and Triazol Pesticides in Soil Using QuEChERS with Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry. *Asian Journal of Chemistry*, 26(19). 6457-6460.
90. Zrostlíková, J., Hajšlová, J., Poustka, J., y Begany, P. (2002). Alternative calibration approaches to compensate the effect of co-extracted matrix

components in liquid chromatography–electrospray ionization tandem mass spectrometry analysis of pesticide residues in plant materials. *Journal of Chromatography A*, 973(1-2), 13–26.

91. Zong Wan-li, Qu Shu-xia y Lu Gang. (2013). Determination of Aldicarb in Ginger by HPLC-MS/MS. *Journal of Material Applications*, 2(2), 63–67.

ANEXOS

Certificado de Calibración de la Balanza



LABORATORIO DE CALIBRACIÓN ACREDITADO POR EL ORGANISMO PERUANO DE ACREDITACIÓN INACAL - DA CON REGISTRO N° LC - 006



N° BD21-C-1077

INCERTIDUMBRE EXPANDIDA Y LECTURA CORREGIDA
Expanded uncertainty and corrected reading

Incetidumbre expandida de medición
Expanded measurement uncertainty

$$U_{95} = 2^* \sqrt{0,0000000065 \text{ g}^2 + 0,000000000021 \text{ R}^2}$$

Lectura Corregida
Corrected reading

$$R_{\text{corregida}} = R + 0,00000039 \text{ R}$$

R : Indicación de lectura de la balanza (g)
R : Reading indication of the balance

INCERTIDUMBRE DE MEDICIÓN
Measurement Uncertainty

Measurement Uncertainty

La incertidumbre de medición calculada (U), ha sido determinada a partir de la incertidumbre estándar de medición combinada, multiplicada por el factor de cobertura k=2. Este valor ha sido calculado para un nivel de confianza aproximado del 95%.

The calculated uncertainty of measurement (U), has been determined from the combined Standard Uncertainty of Measurement multiplied by the coverage factor k=2. This value has been calculated for a confidence level approximation of 95 %.

OBSERVACIONES
Notes

Notes

(*) El valor de "k", capacidad mínima y clase de exactitud están indicadas en la balanza.

(*) The value of "k", minimum capacity and accuracy class are indicated on the balance.

(**) Código indicado en la balanza.

(**) Code indicated in the balance.

El coeficiente de variación térmica es 0,000002 °C-1 según el manual de la balanza.

The coefficient of thermal variation is 0,000002 °C-1 according to the manual of the balance.

Se ajustó la balanza antes de la calibración.

The balance was adjusted before calibration.

NOTAS
Notes

Notes

Los resultados contenidos en el presente documento son válidos únicamente para las condiciones del instrumento durante la calibración. KOSMOMET S.A.C. no se responsabiliza de ningún perjuicio que puedan derivarse del uso inadecuado del objeto calibrado.

The values indicated in this document are only valid for the conditions of the instrument during calibration. KOSMOMET S.A.C. takes no responsibility for any damage caused by the use of the calibrated object.

Los resultados declarados en el presente documento se relacionan solamente con el ítem sometido a calibración indicado en la página 1 de este documento.

The results declared in this document relate only to the item undergoing calibration indicated on page 1 of this document.

Una copia de este documento será mantenida en archivo electrónico en el laboratorio por un período de por lo menos 4 años.

A copy of this document will be kept in electronic archive in the laboratory for 4 years at least.

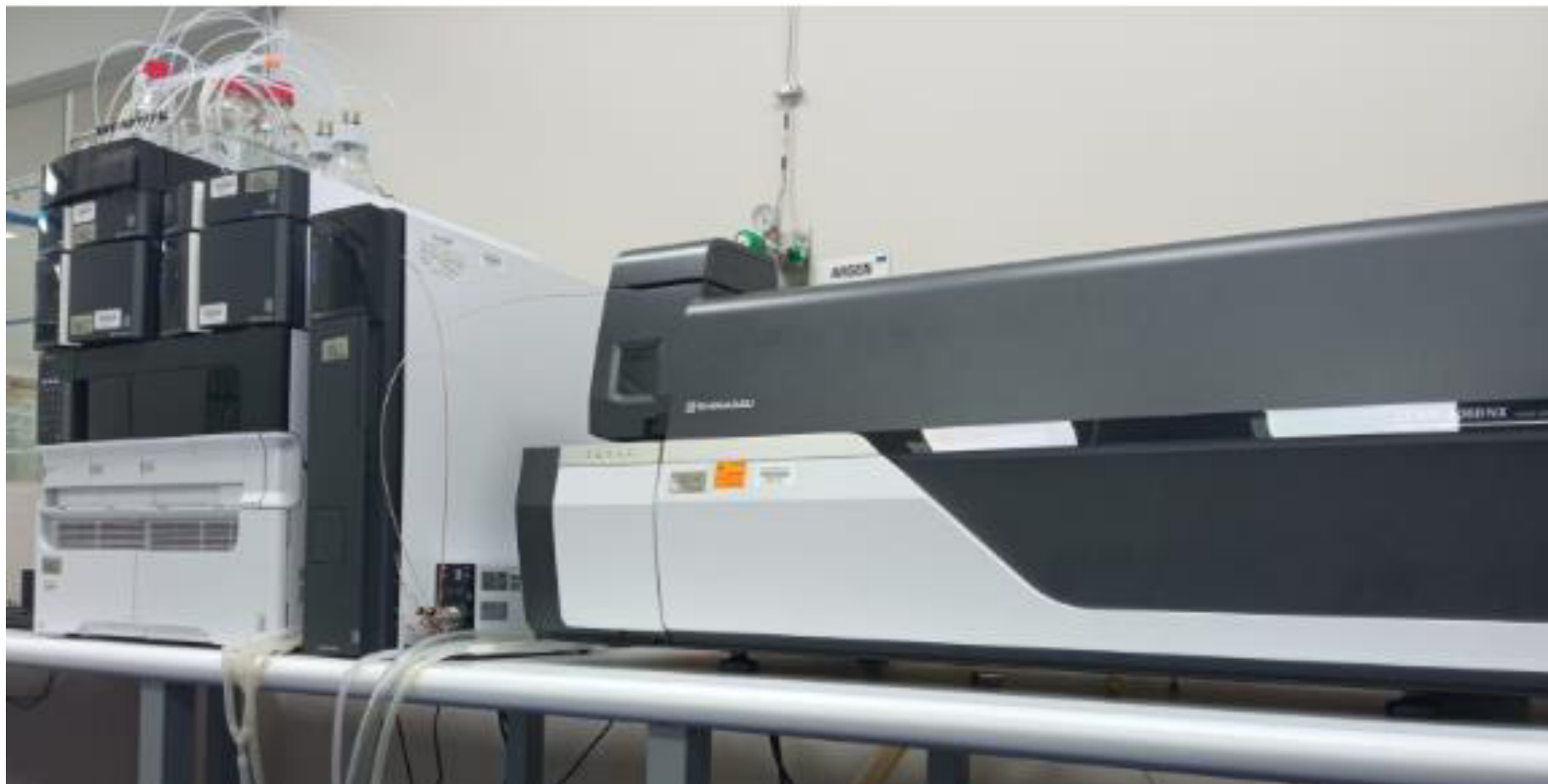
La versión en inglés de este documento es una traducción relativa. En caso de duda, es válida la versión original en español.

The version in english of this document is not a binding translation. If any controversy arises, the original version in spanish must be considered.

Lista de Pesticidas Peligrosos

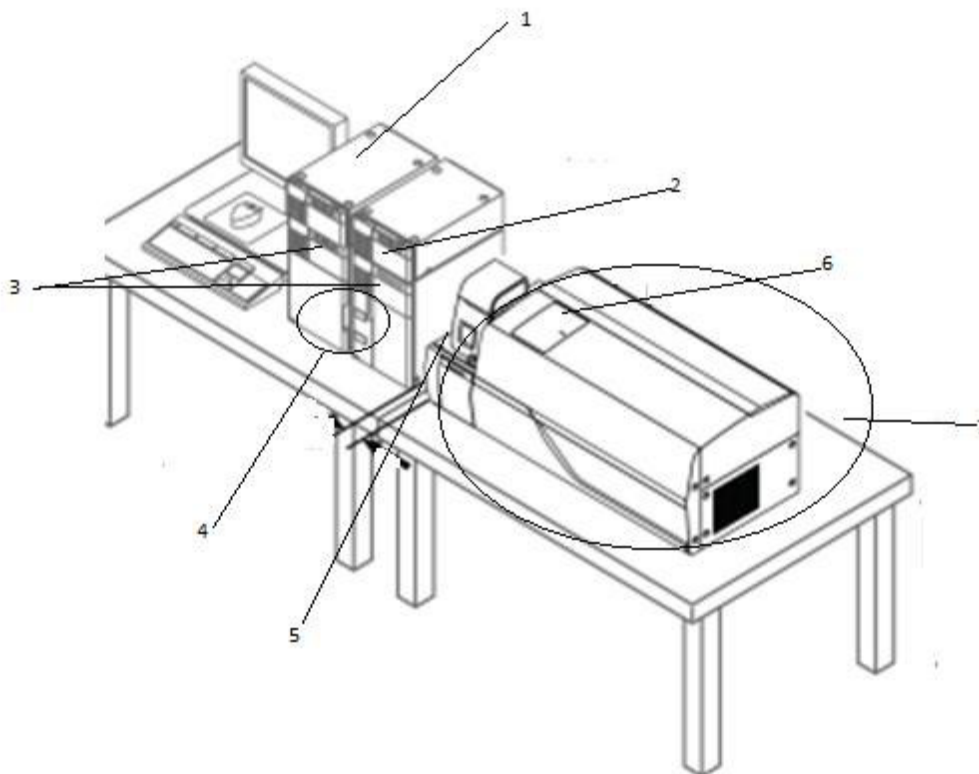
Lista de PAN Internacional de Plaguicidas Altamente Peligrosos – Marzo 2021																									
CAS Número	Plaguicida	Agrupados (ver pág. 23)	Sum de max=1 en Grupos 1-4	Grupo 1: Toxicidad Aguda			Grupo 2: Efectos de largo plazo							Grupo 3: Toxicidad ambiental			Grupo 4: Convenciones								
				OMS Ia	OMS Ib	H330 máx. = 1	EPA carc	IARC carc	SGA' carc (1A, 1B)	IARC prob carc	EPA prob carc	SGA' multa (1A, 1B)	SGA' repro (1A, 1B)	EU EDC	SGA' C2 & R2	máx. = 1	Muy bioacumulable	Muy pers. en agua, suelo o sedimentos	Muy tóxico para org. acuáticos.	Altamente tóxico para abejas	máx. = 1	Protocolo de Montreal	PIC	Ver nota al final de la tabla	COOP
48	95465-99-9	Cadusafós	2	1	1	1								0	1	1	1	1							0
49	592-01-8	Cianuro de calcio	1	1	1	1								0				0							0
50	2425-06-1	Captafol	3	1	1	1		1	1	1				1				0		1					1
51	133-06-2	Captan	1		0	0			1				1	1				0							0
52	63-25-2	Carbaril	2		0	0			1				1	1			1	1							0
53	10605-21-7	Carbendazima	1		0	0				1	1			1				0							0
54	16118-49-3	Carbetamida	1		0	0					1			1				0							0
55	1563-66-2	Carbofuran	3	1	1	1								0			1	1		1	X				1
56	55285-14-8	Carbosulfan	3		1	1								0			1	1		1	C _{OP}				1
57	2439-01-2	Quometionato; Oxflóquinox	1		0	0			1					1				0							0
58	500008-45-7	Clorantranilíprol	1		0	0								0	1	1		1							0
59	57-74-9	Clordán	3		0	0			1				1	1	1			1		1		1	1		1
60	54593-63-8	Cloretoxifós	2	1	1	1								0			1	1							0
61	122453-73-0	Clorfenapir	1		0	0								0			1	1							0
62	470-90-6	Clorfenvinfós	2	1	1	1								0			1	1							0
63	71422-67-8	Clorfluazuron	1		0	0								0	1	1		1							0

Cromatógrafo Líquido acoplado a un Detector Masas Triple Cuadrupolo (LC-MS/MS)



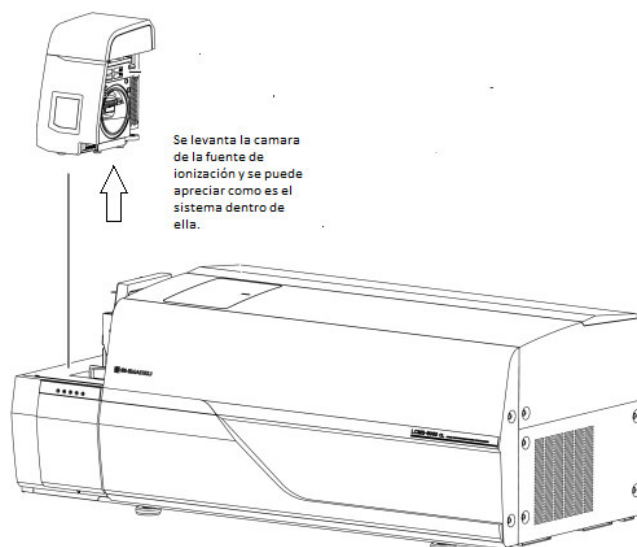
Nota. LC-MS/MS marca Shimadzu modelo LC-MS 8060 NX

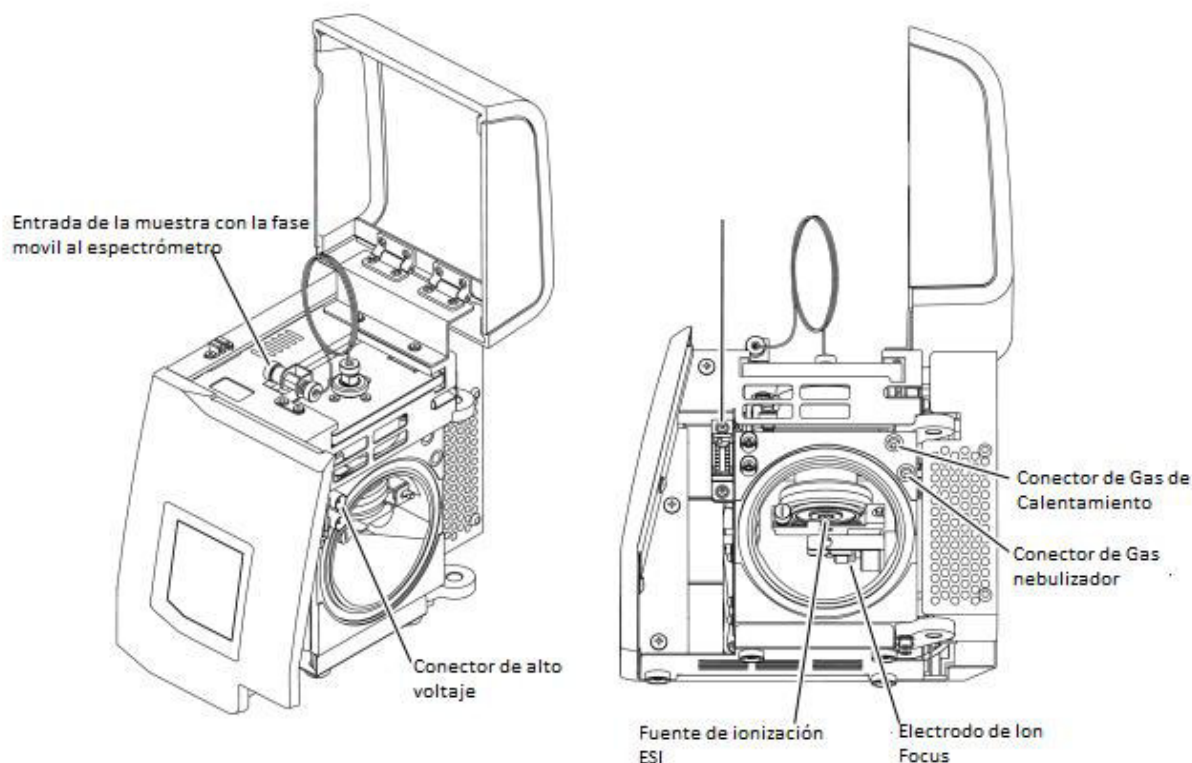
Características del Cromatógrafo Líquido acoplado a un Detector Masas Triple Cuadrupolo (LC-MS/MS) LC-MS 8060 NX



1. Bandeja de Fases móviles
2. Controlador
3. Bomba
4. Sampler
5. Cámara de Fuente de ionización
6. Cámara de Lentes
7. Espectrómetro de Masas Triple Cuadrupolo

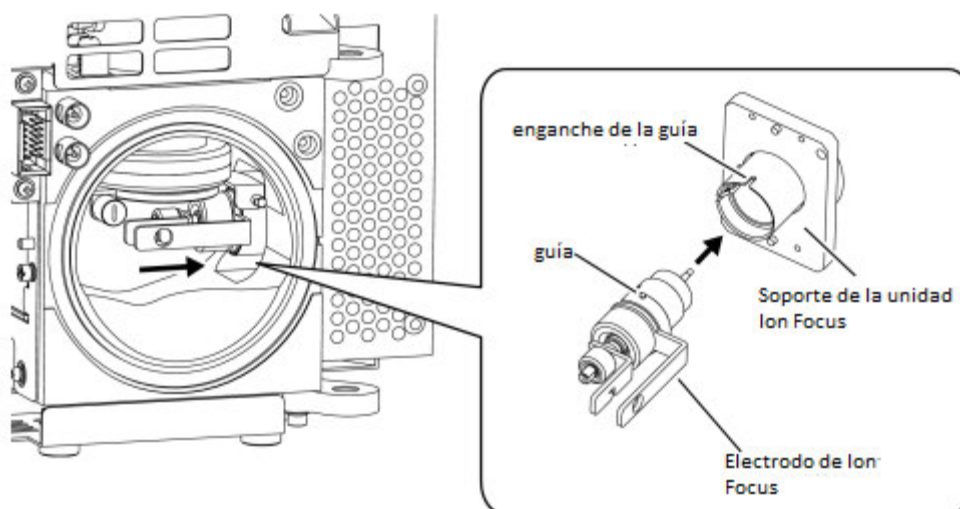
Partes del Espectrómetro de Masas Triple Cuadrupolo



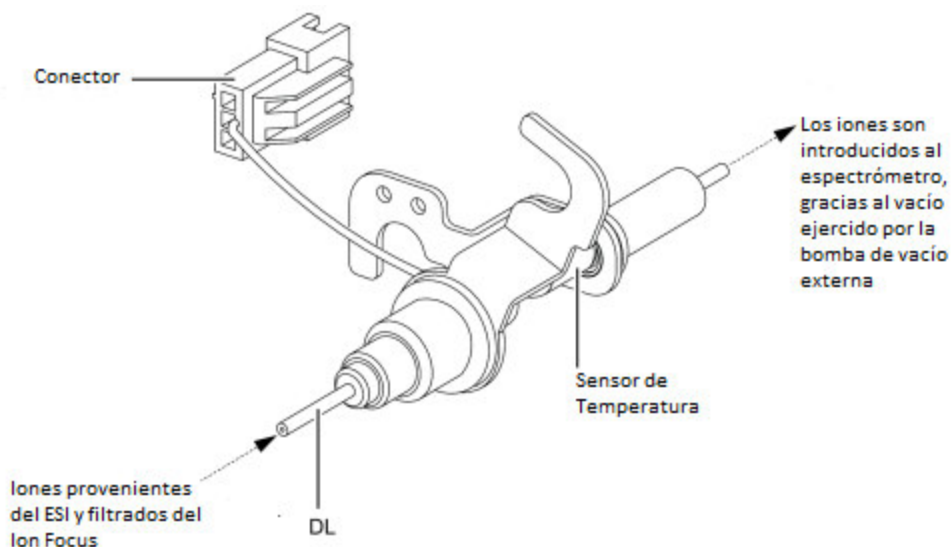


La muestra proveniente del cromatógrafo, entra con la fase móvil por la entrada, y en la interfase tiene la reacción de ionización del analito, con un alto voltaje en, después del cual sale como gotículas cargadas de la fuente de ionización ESI, en forma de spray formado por el gas de nebulización que sería el gas nitrógeno, luego entra a través de los electrodos del ion focus (componente exclusivo del modelo LCMS-8060NX de la marca Shimadzu), los cuales pueden seleccionar a los analitos de interés y separarlos de los compuestos típicos de la muestra.

Las partes del Ion Focus:

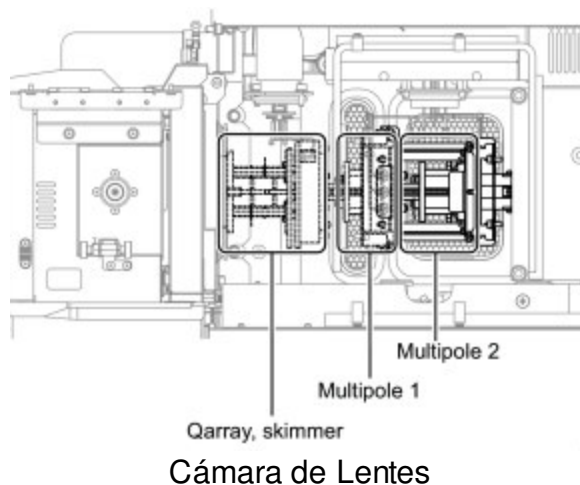


Luego que los analitos son seleccionados por el Ion Focus, proceden entrar al espectrómetro, donde se encuentra la cámara de lentes gracias al vacío ejercido por la bomba de vacío externa, a través del DL (línea de Desolvatación)

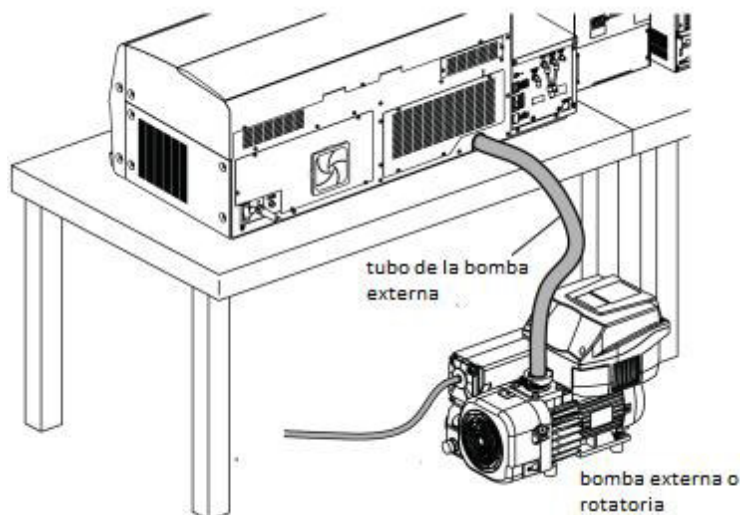


Unidad DL (línea de desolvatación)

Los iones van a pasar a través del Q-array y saliendo por el Skimmer, entrando a los lentes conformados por los Multipolos 1 y 2 los cuales van a ejercer un campo eléctrico al ión y focalizarlo, preparándolo para su entrada a los cuadrupolos.

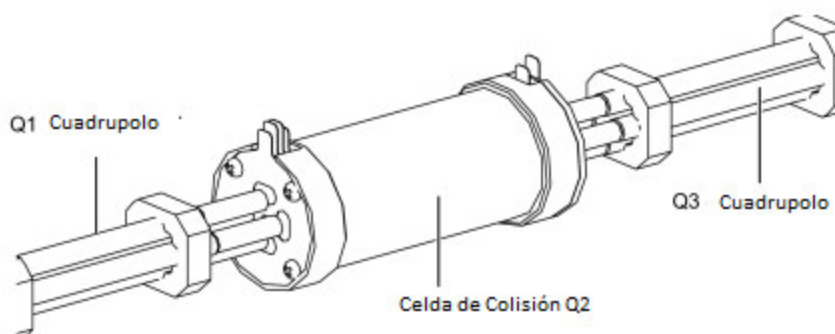


El vacío ejercido en la cámara de lentes es ejercido por la bomba de vacío externa o rotatoria.



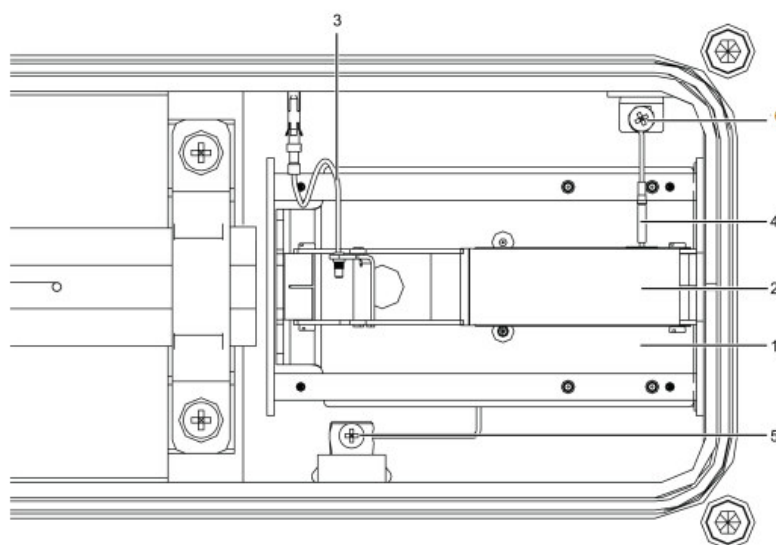
Ubicación de la Bomba externa o rotatoria

Los iones van a entrar a la parte interna del equipo donde se encuentran los cuadrupolos y la celda de colisión gracias al vacío ejercido por la bomba interna o turbo molecular.



Cuadrupolos y Celda de colisión


Luego los iones van al detector electromultiplicador.

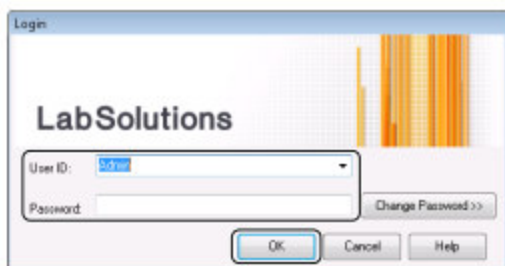


Partes del detector

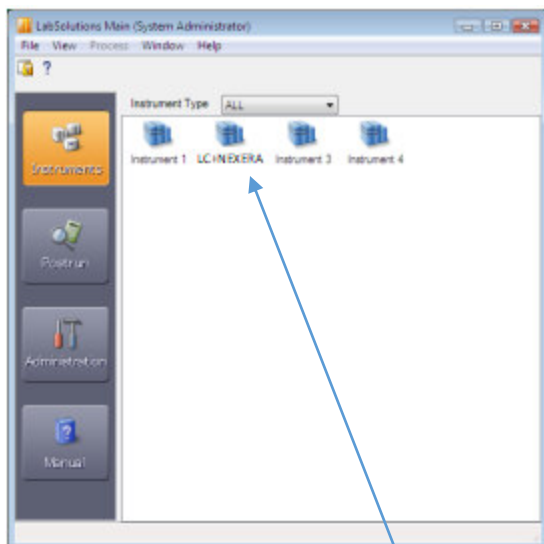
1. Detector
2. Electromultiplicador
3. Cable 1(para alto voltaje)
4. Cable 2(para la señal)
5. Tornillo estrella 3x6
6. Tornillo estrella 3x10

INSTRUCTIVO DEL SOFTWARE LAB SOLUTIONS DEL LC-MS 8060 NX

- Doble click en el icono  Lab Solutions
- Registrar el ID del usuario



- Se mostrará la ventana principal del Lab Solutions Main y escoger Instrument



- Escoger el icono de LC+NEXERA

- Se mostrará la ventana principal del Lab Solutions LC+NEXERA realtime Analysis

Folder: C:\LabSolutions\Data\2022\SETEMBRE

Analysis	Val#	Tray	Sample Name	Sample ID	Sample Type	Analysis Type	Method File
20	17	1	sh4-2-1000	sh4-2-1000	0 Unknown	MIT MDT	C:\LabSolutions\Metodos\AM.R-1003 Screen LC-443 (Dwell y Pause) 18
71	111	1	sh4-2-1-1000	sh4-2-1-1000	0 Unknown	MIT MDT	C:\LabSolutions\Metodos\AM.R-1003 Screen LC-443 (Dwell y Pause) 18

LCRunning MSRunning

Sample Name : sh4-2-1000
Sample ID : sh4-2-1000
Data Comment :

LC MS ALL

MS Running Time: 9.66 / 12.31 min Scan#: 31296 Inten.: 1000

Event#: 5 Polarity: + Mode: MRM
Event#: 81 Polarity: + Mode: MRM

Buttons: Edit Instrument Parameters, Instrument On

Realtime Batch

Message Log

Message	Sub Message	Date	Time
Start Data Acquisition.	#18-06-09-2022_s_08092022_005.lcd - 2022/09/08 20:21:12	08/09/2022	08:21:12
Start Data Acquisition.	#19-06-09-2022_s_08092022_006.lcd - 2022/09/08 20:36:47	08/09/2022	08:36:47
Start Data Acquisition.	#20-06-09-2022_s_08092022_007.lcd - 2022/09/08 20:52:21	08/09/2022	08:52:21

LC Running

MS Running

Item	Value	Setting	Units
Pump System A Mode	Binary gradient		
Pump A Pressure	181		bar
Pump B Pressure	182		bar
Pump System A Flow	0.4000	0.4000	mL/min
Pump System A B Conc	96.8	3.5	%
Pump System B Flow	0.0000	0.0000	mL/min
Pump A Degassing Unit	-94		kPa
Pump B Degassing Unit	Not Connected		kPa
Oven Temperature	40.0	40	C
Temperature Limit(Max)	90	90	C
Overlap Mode	Off	Off	
Injection Vial No.	1(L)-17		
Injection Volume	0.5		uL
Nebulizing Gas Flow	3.0	3.0	L/min

Instrument Parameters

Realtime Batch

Data Acquisition

Log

LC status

MS Status

Details

- Verificar que en el status bar indique Ready, y el Data Acquisition indica las opciones para ver los cromatogramas en MS, sus espectros, el progreso de la gradiente de la fase móvil en LC.
- En Details debe tener los datos generales del LC y del MS:

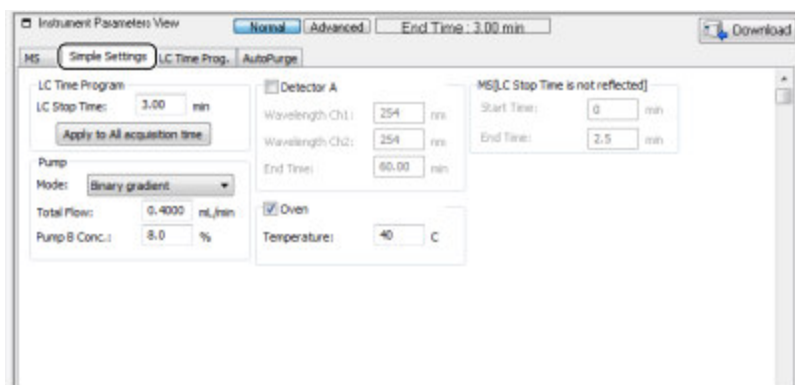
Parámetro	Valor
Interface Voltage (kv)	1.5
Temperatura de desolvatación (°C)	486
Flujo de gas de nebulización (L/min)	3.0
Flujo de Dying gas (L/min)	10.0
Flujo de Heating gas (L/min)	10.0
Desolvatation Line DL Temperature (°C)	250
IG Vacuum (Pa)	$1.5 * 10^{-3}$
PG Vacuum (Pa)	$1.4 * 10^{+2}$
Interface	Ion Focus
Detector Voltage (Kv)	1.96
Pump A pressure (bar)	200
Pump B pressure (bar)	200
Oven Temperature (°C)	40

Las presiones dependen de la columna con la que se trabaja, en este caso es el Phenomenex Synergi 2.5 u Fusion-RP (50mm x 2.00mm x 2.5mm)

- Log o message, comunica al usuario la fecha y hora, de cualquier evento tal como el inicio de la corrida de una secuencia, la falla del equipo, comunicando de donde proviene el desperfecto con fecha y hora.
- Realtime batch indica la secuencia actual con la que se esté trabajando.
- Hacer click en la parte donde se indica, y setear el tiempo de purga.

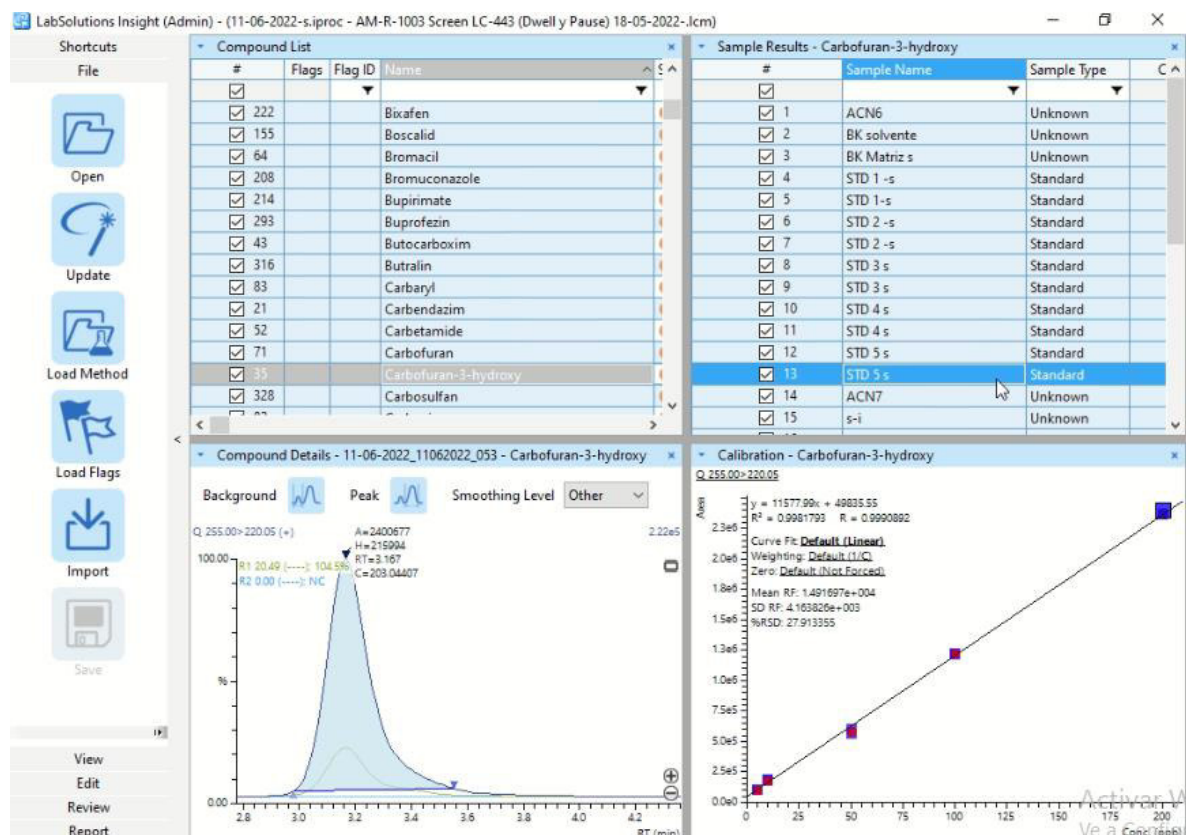


- Entrar a Parameters Instrument y hacer click en cada módulo para prender el equipo.



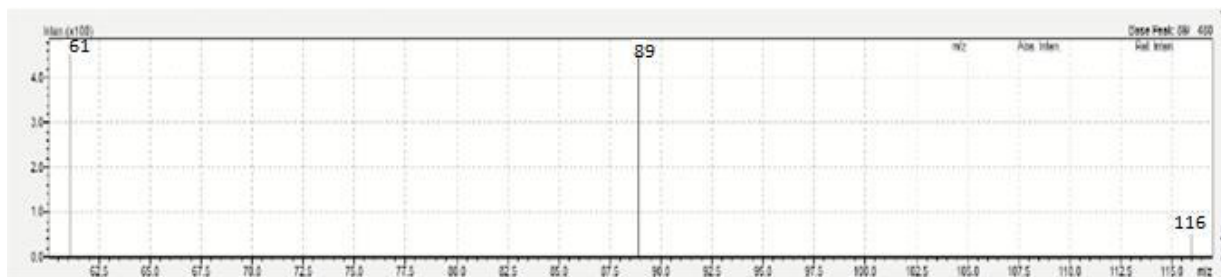
- Entrar a Realtime Batch y crear la secuencia con la que se va a correr, diferenciando la curva de calibrado con las muestras, como Calibration y Level y Sample, hacer click en run sequence y dejar corriendo la secuencia.
- Para cuantificar entrar a la ventana principal del Lab Solutions Main y escoger Post Run, abrir la última secuencia en offline, procesar la secuencia con el ícono run

sequence, luego abrir el archivo en el software Lab Solutions insight, y cuantificar los cromatogramas.

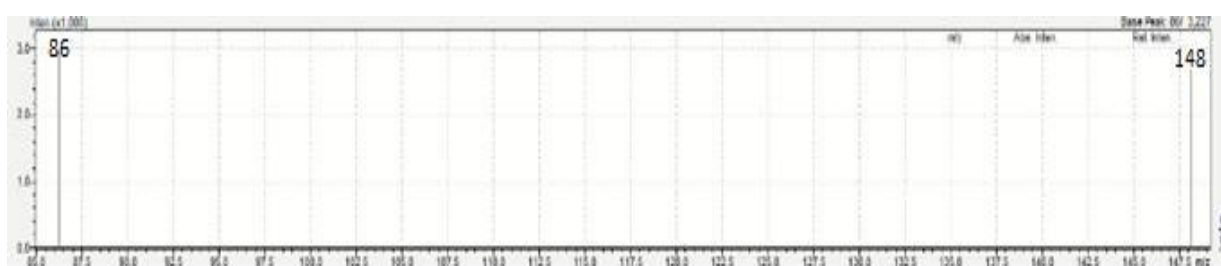


Componentes Iónicos Totales (TIC)

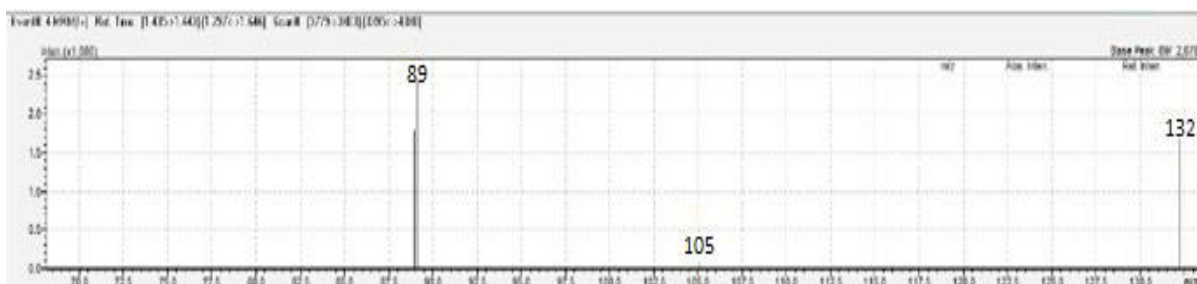
Aldicarb



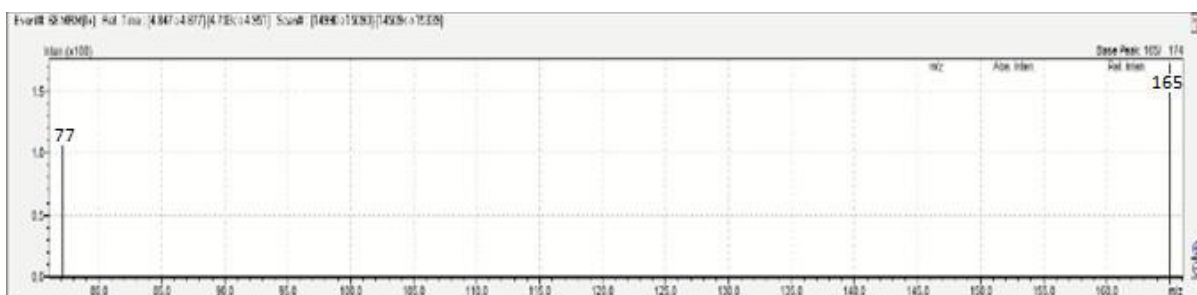
Aldicarb Sulfona



Aldicarb Sulfóxido



Carbofurano

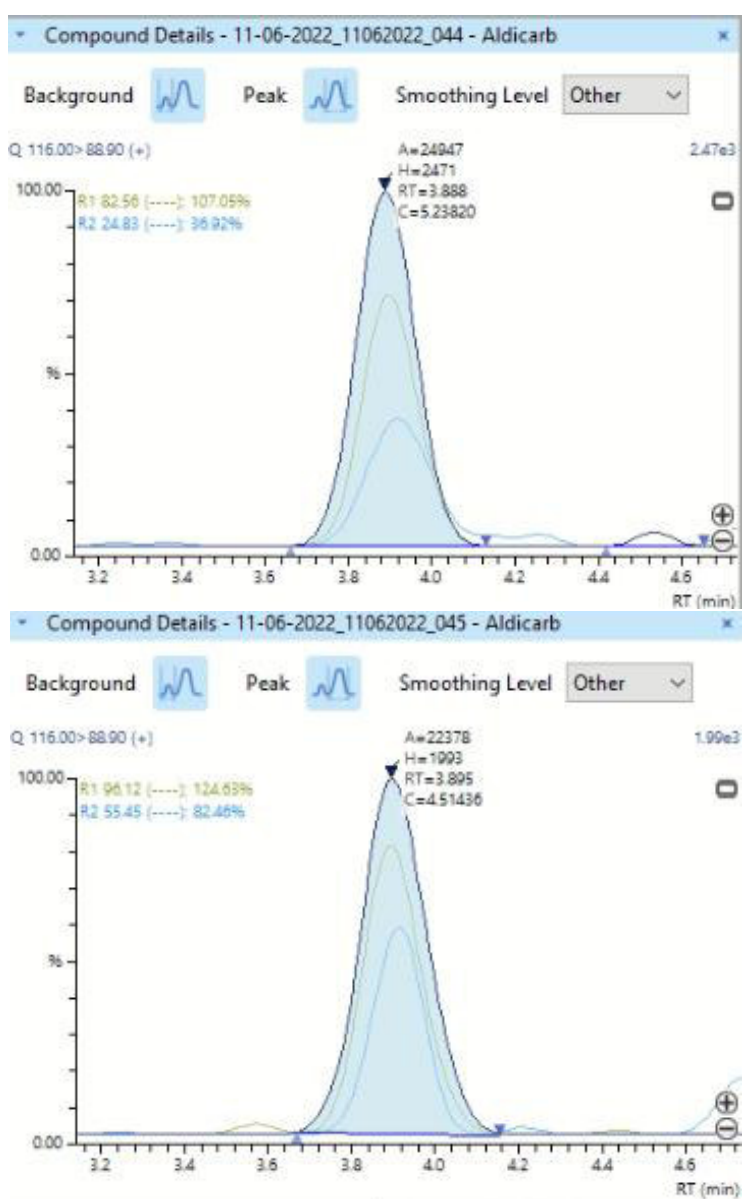


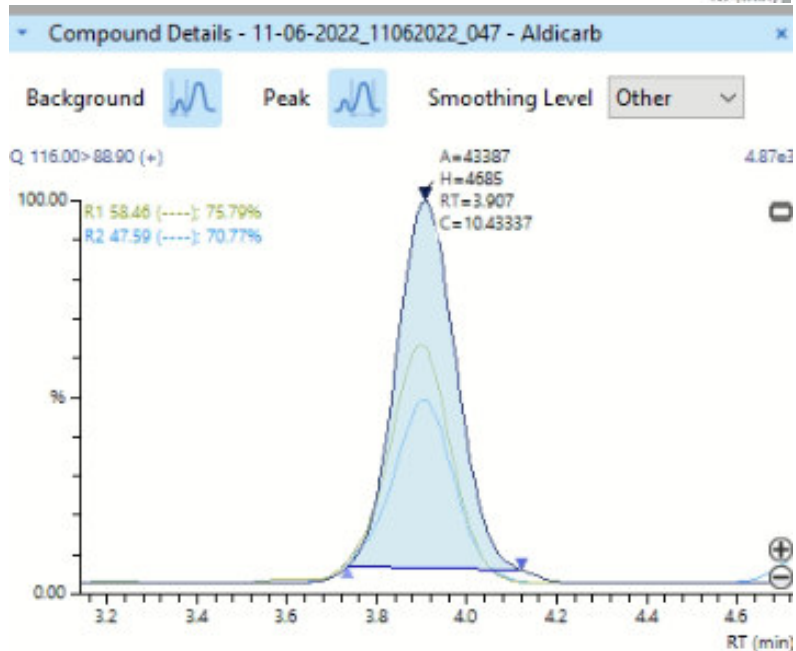
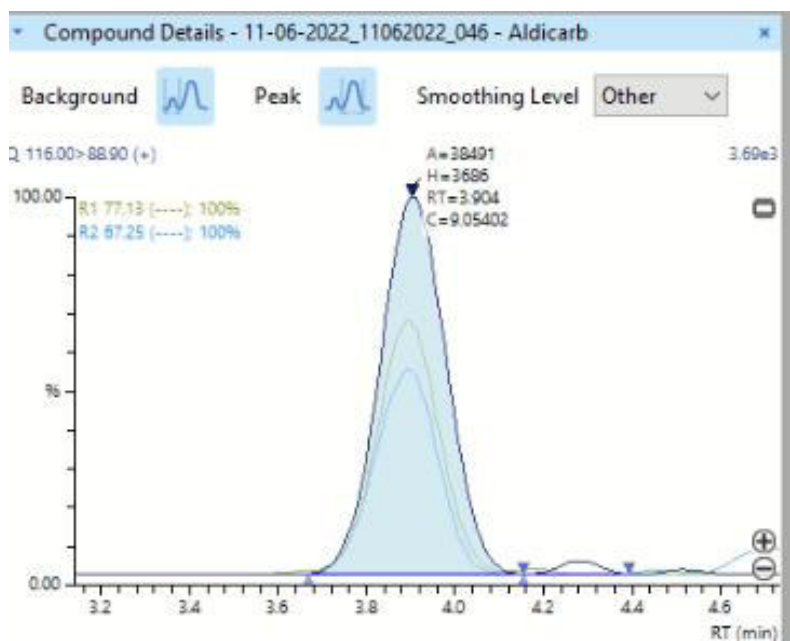
Carbofurano-3-OH

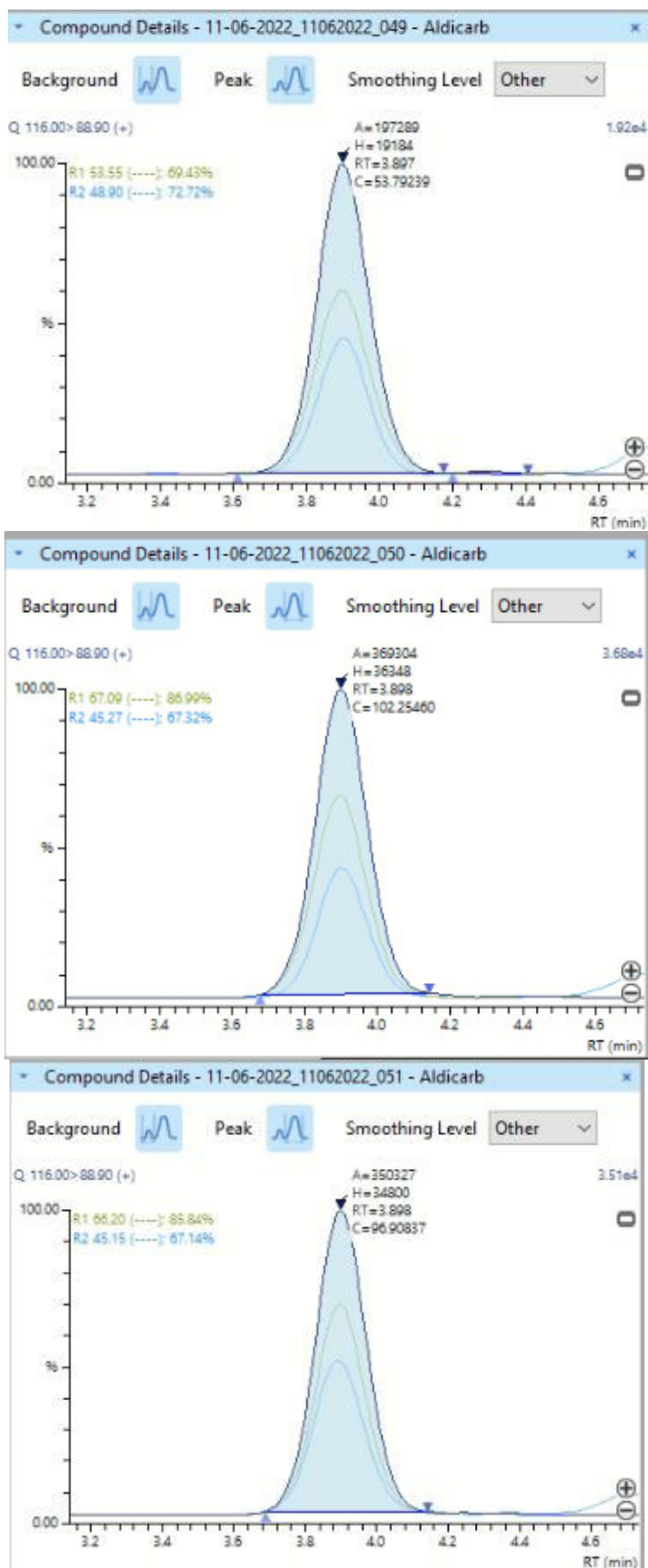


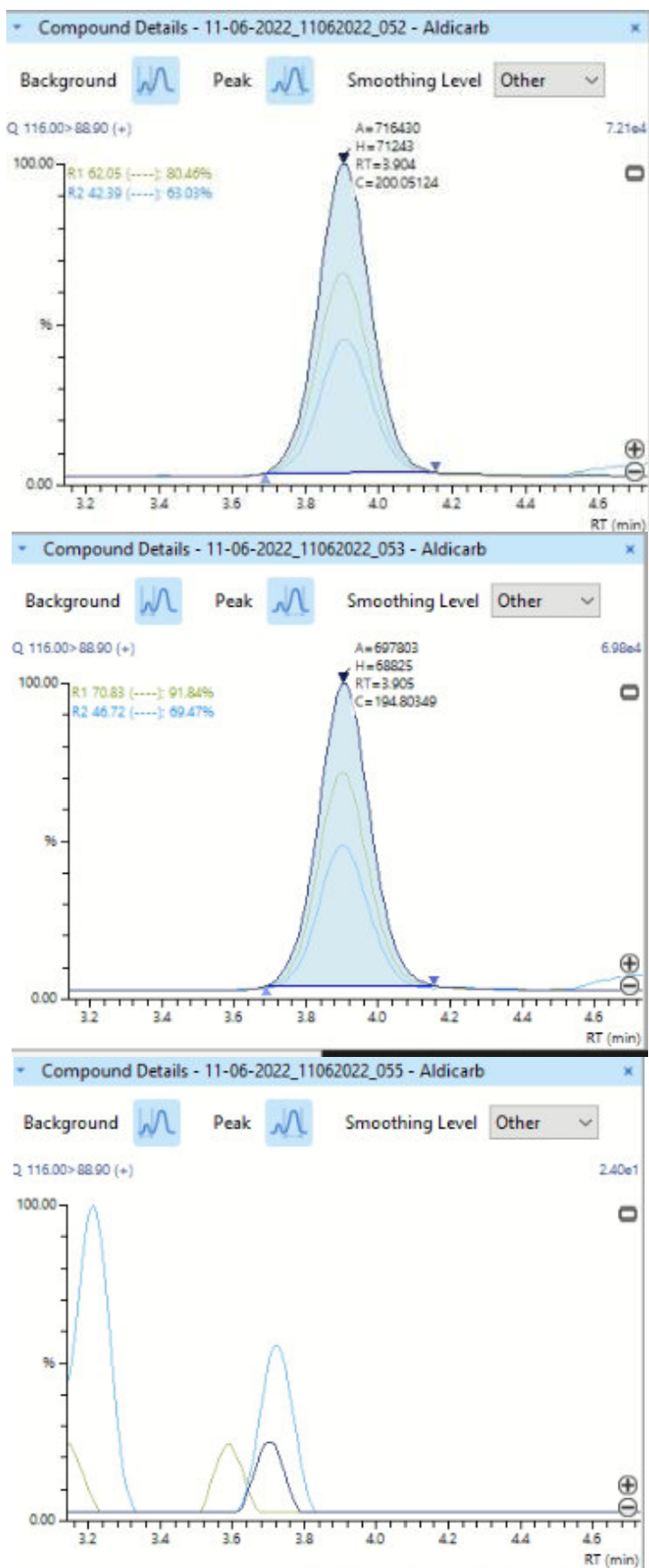
Cromatogramas de las corridas realizadas

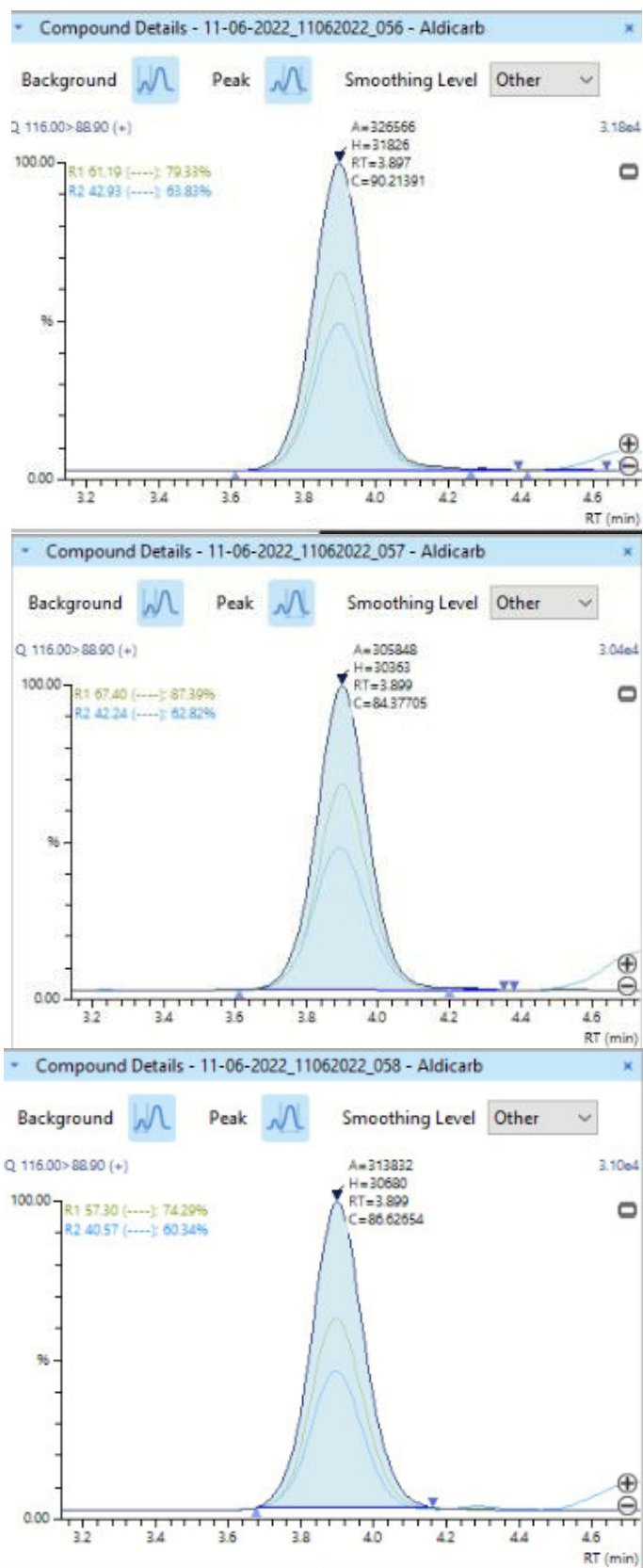
Aldicarb

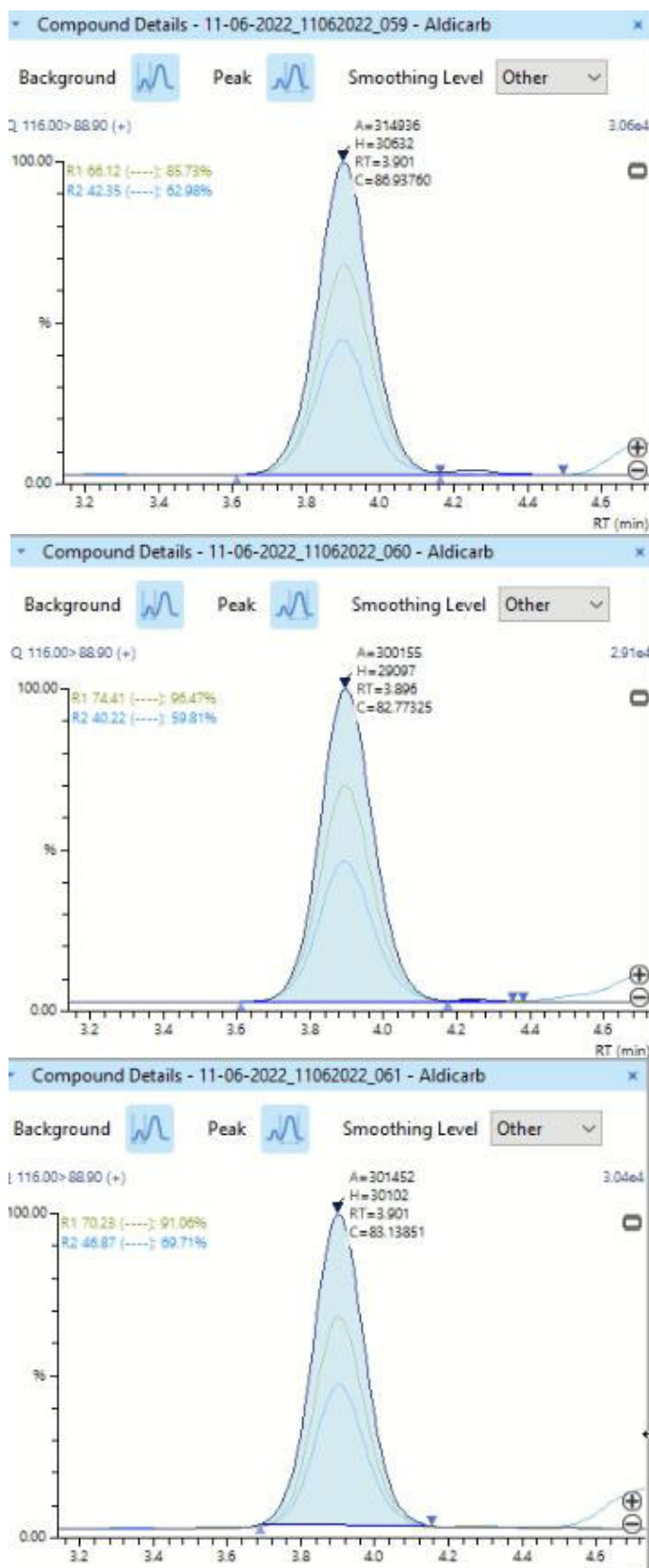


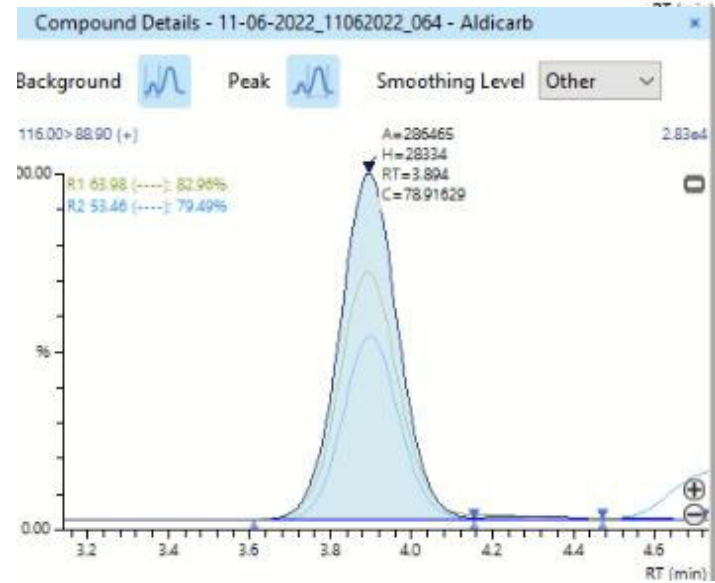
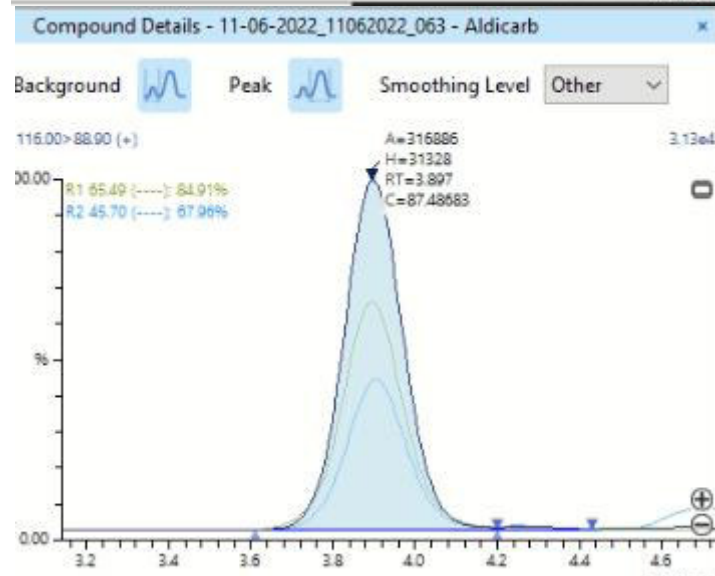
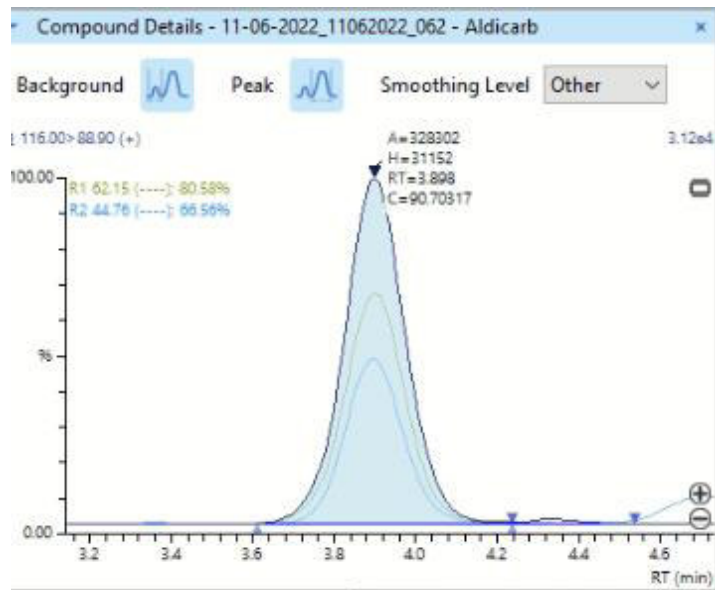


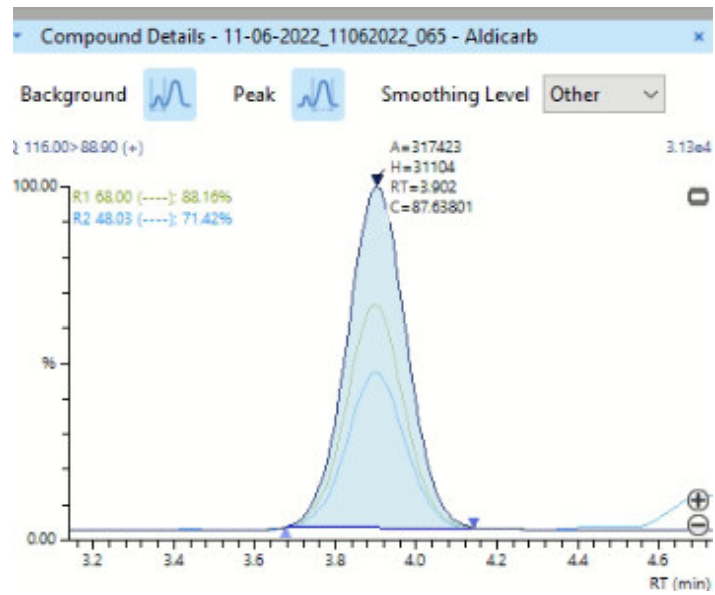




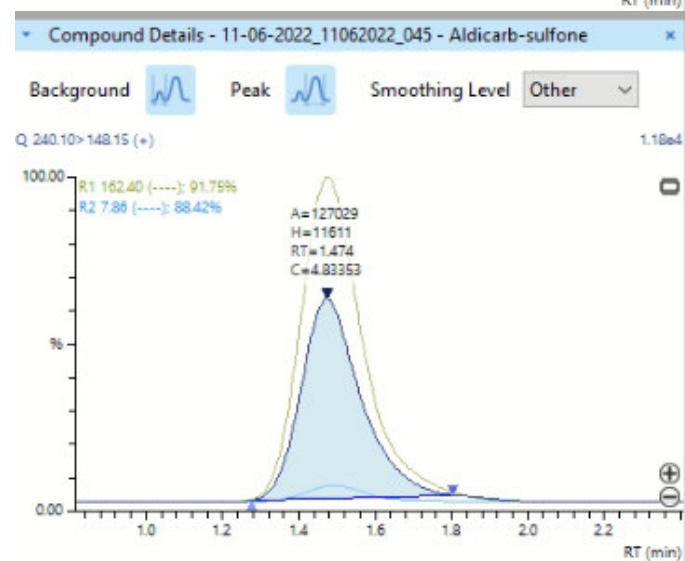
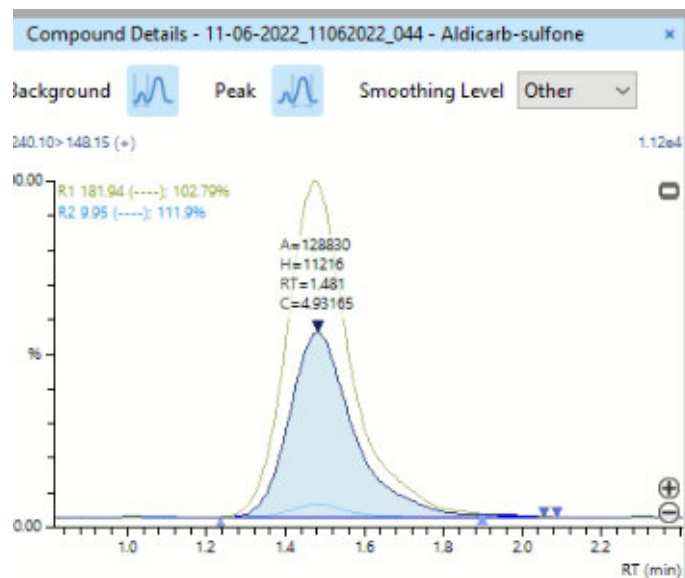


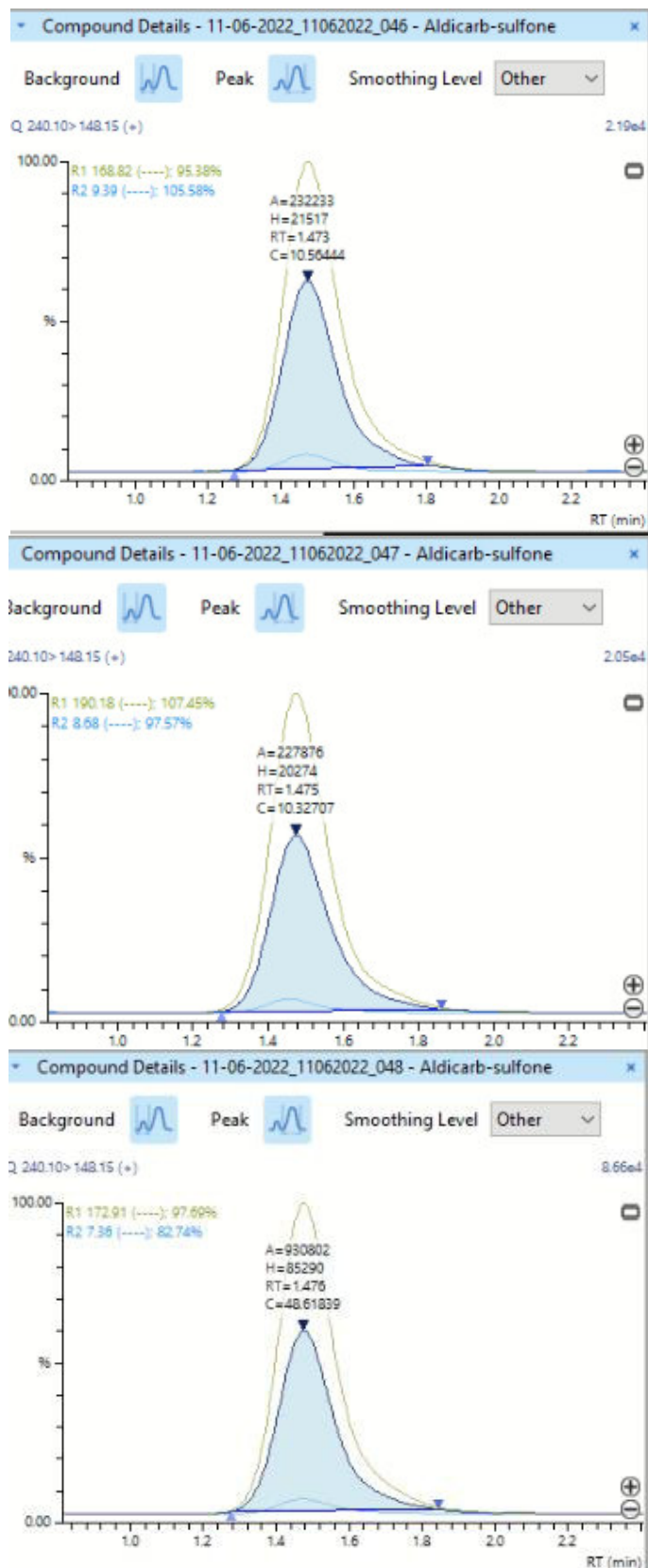




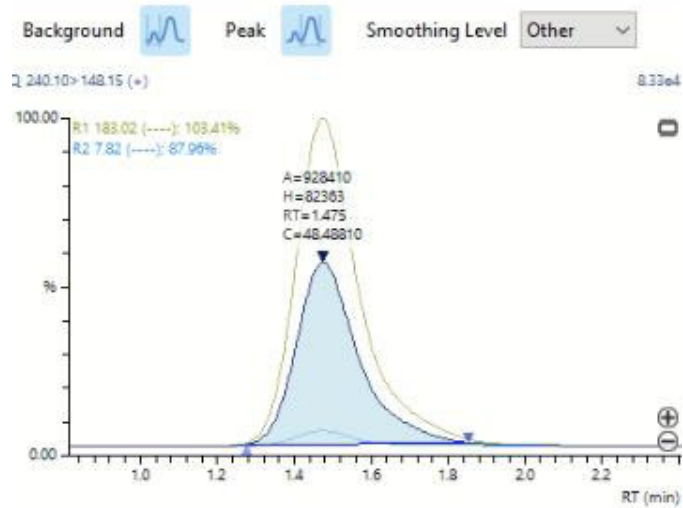


Aldicarb Sulfona

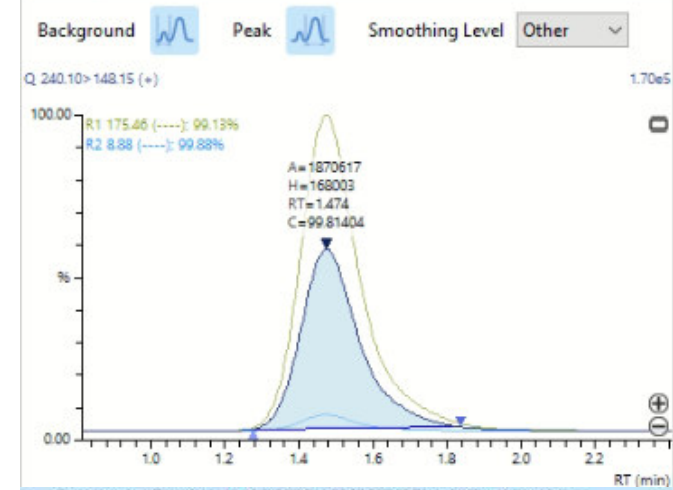




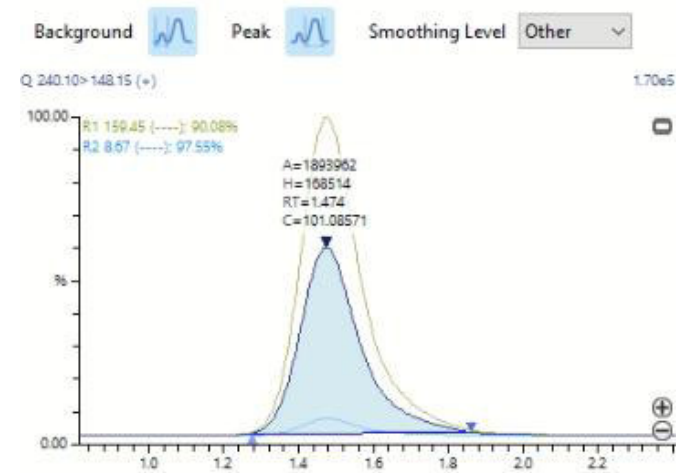
Compound Details - 11-06-2022_11062022_049 - Aldicarb-sulfone

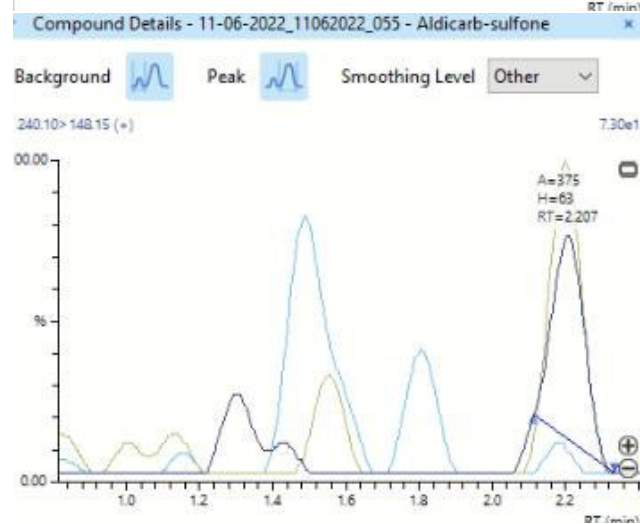
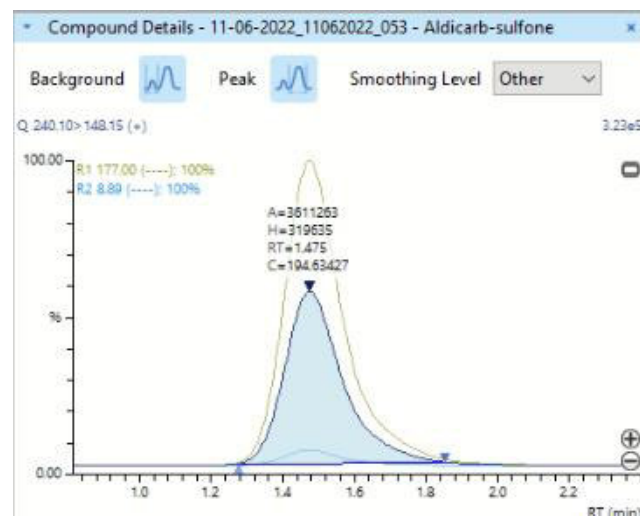
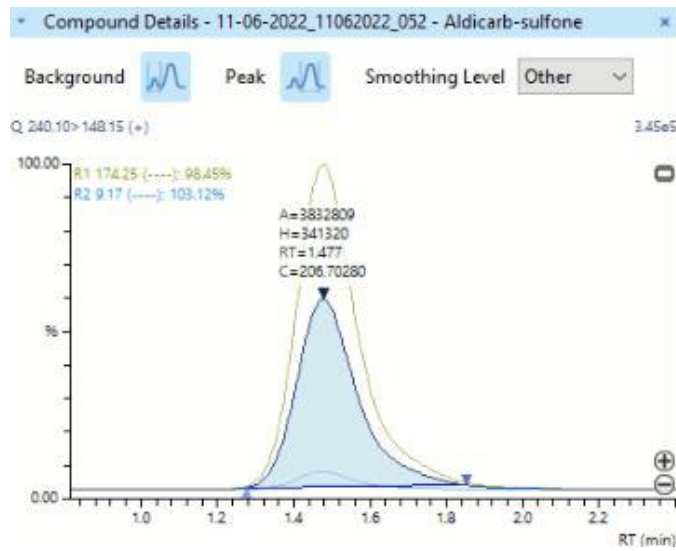


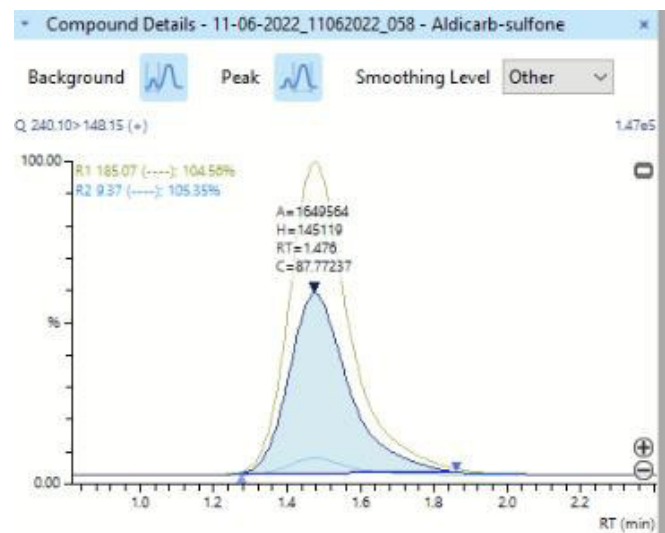
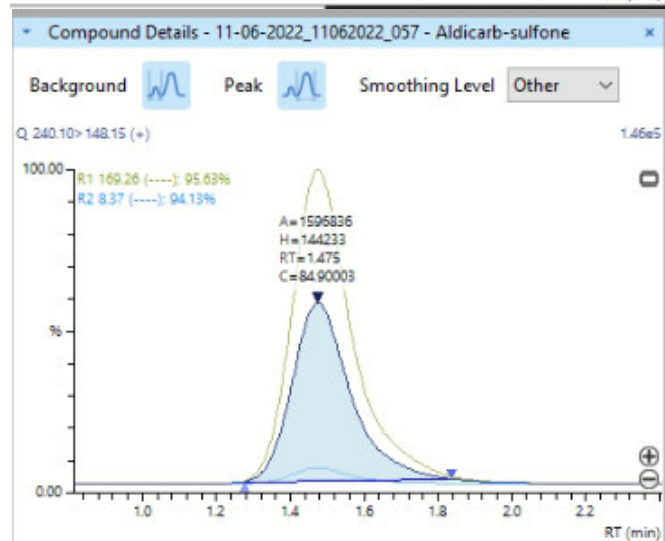
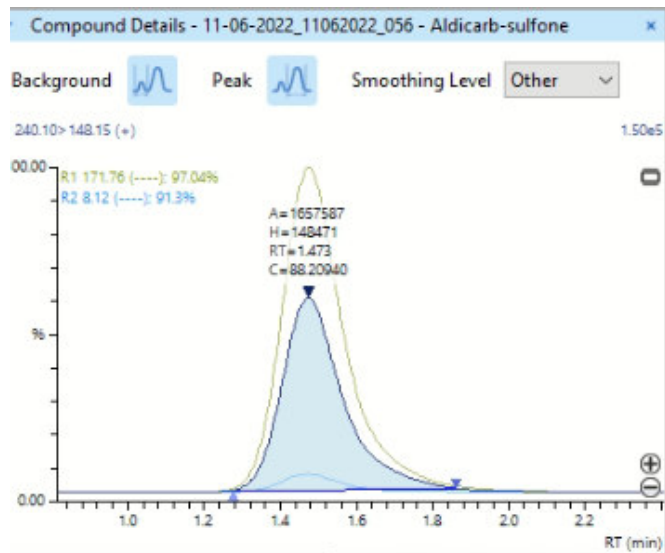
Compound Details - 11-06-2022_11062022_050 - Aldicarb-sulfone

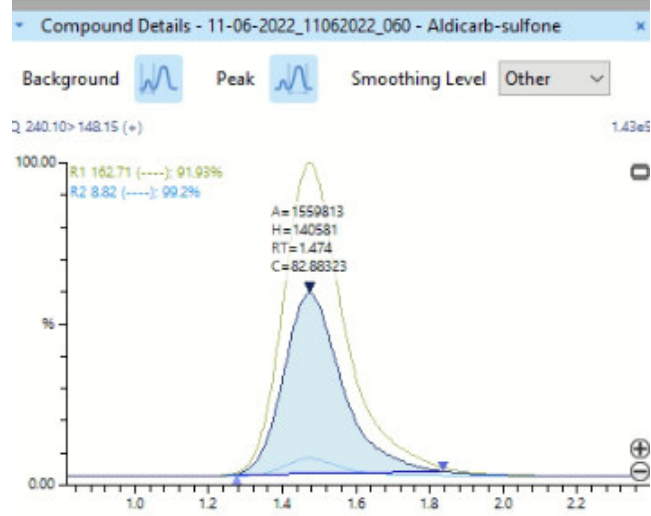
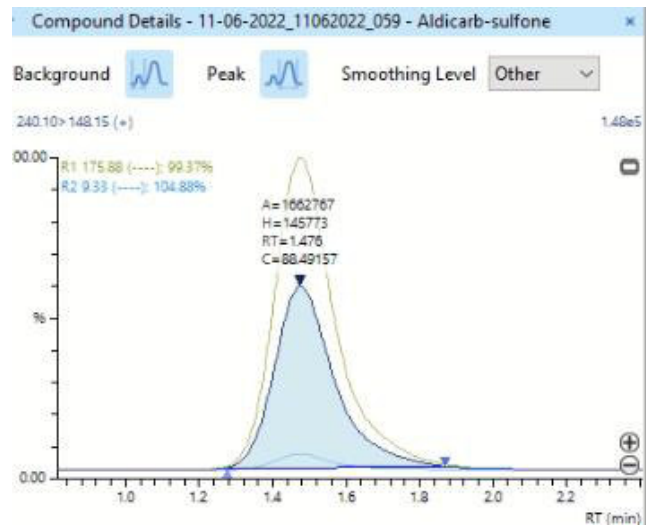


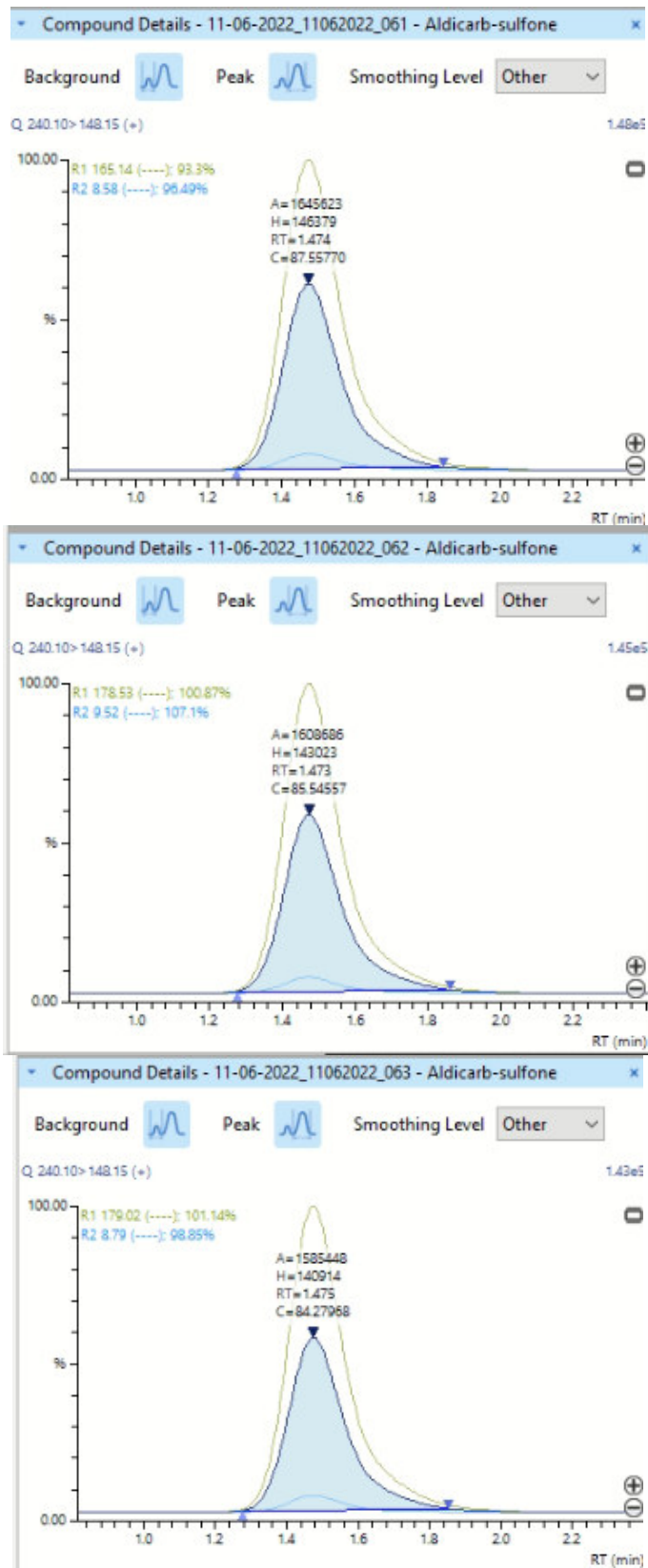
Compound Details - 11-06-2022_11062022_051 - Aldicarb-sulfone

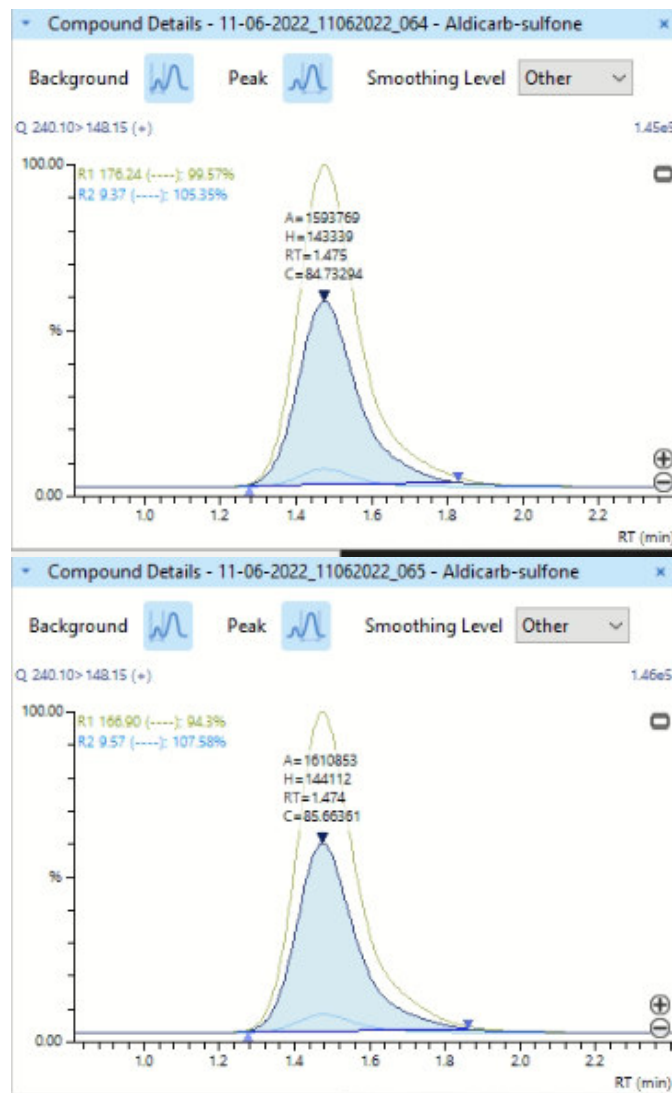




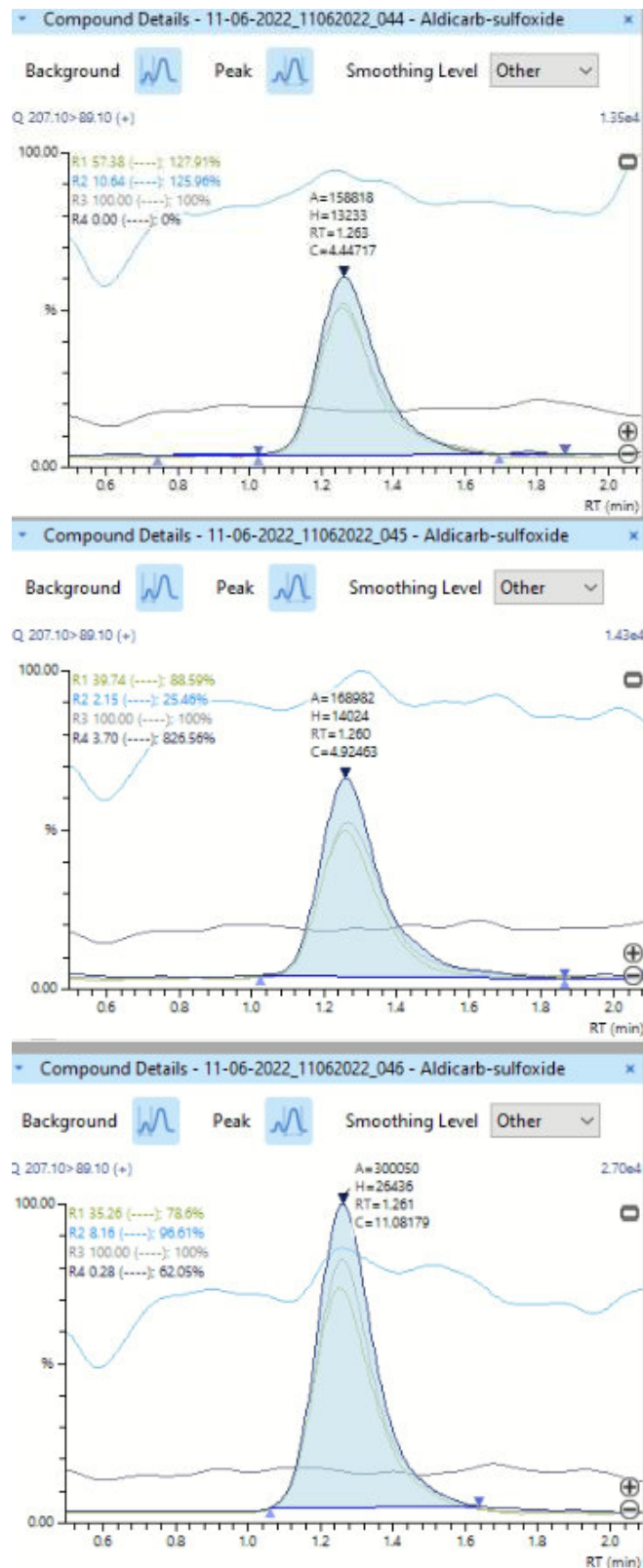


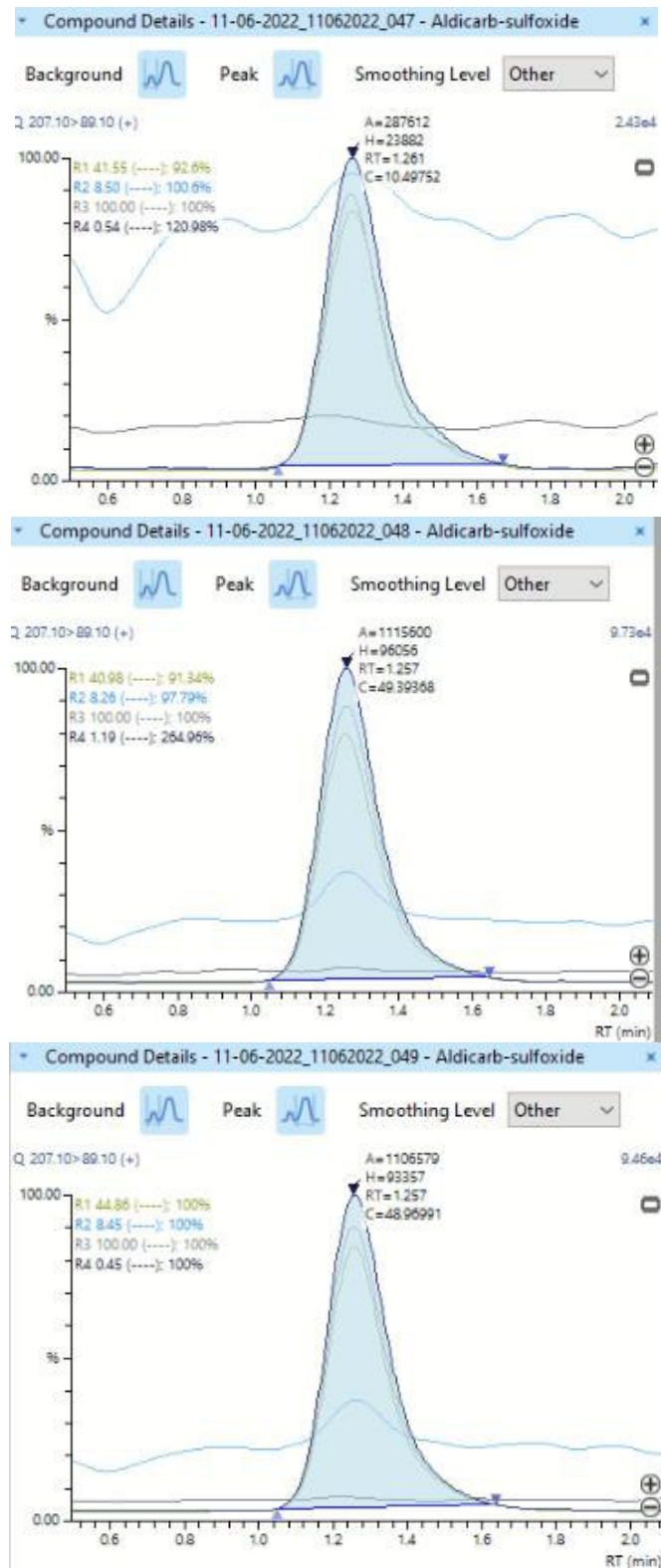


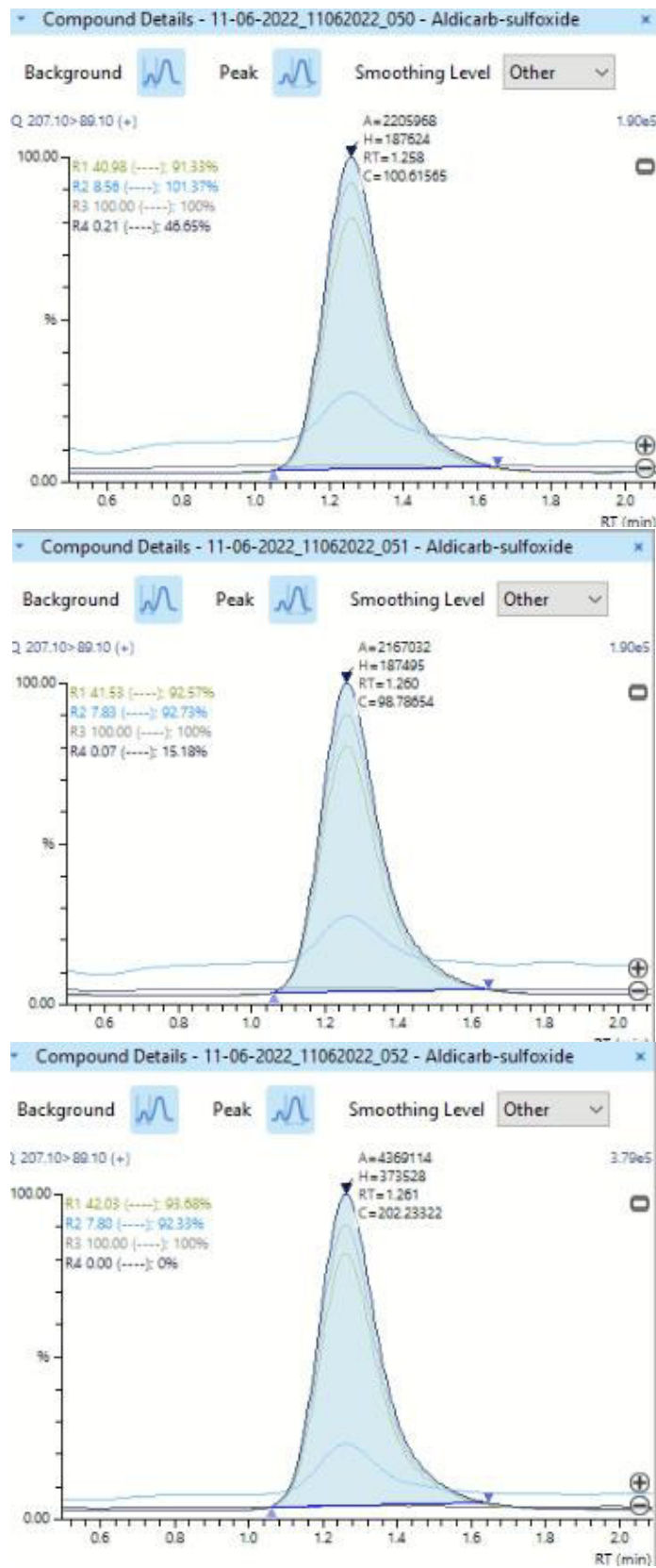


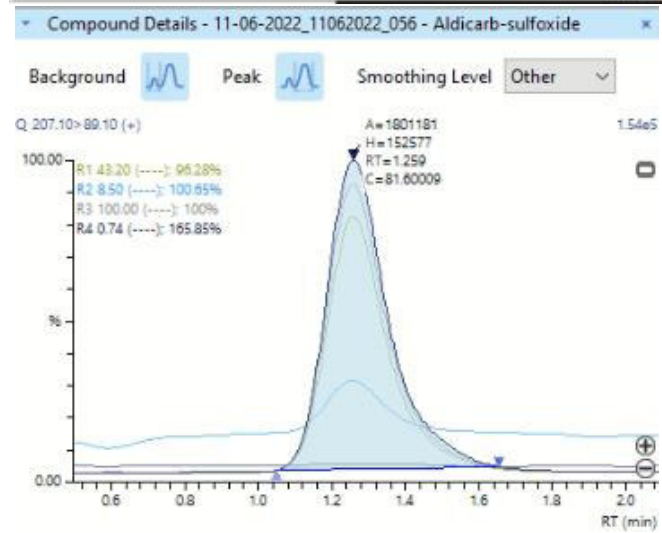
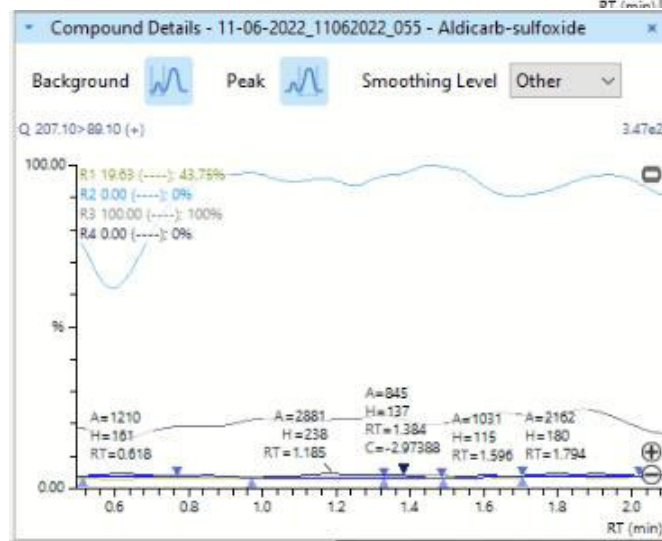
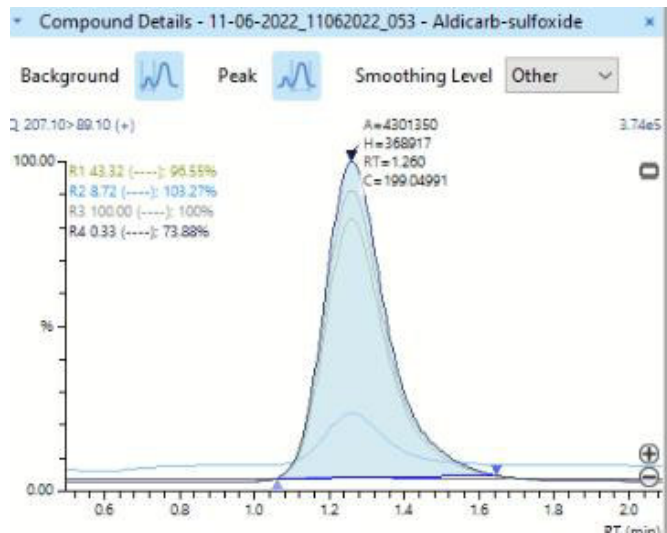


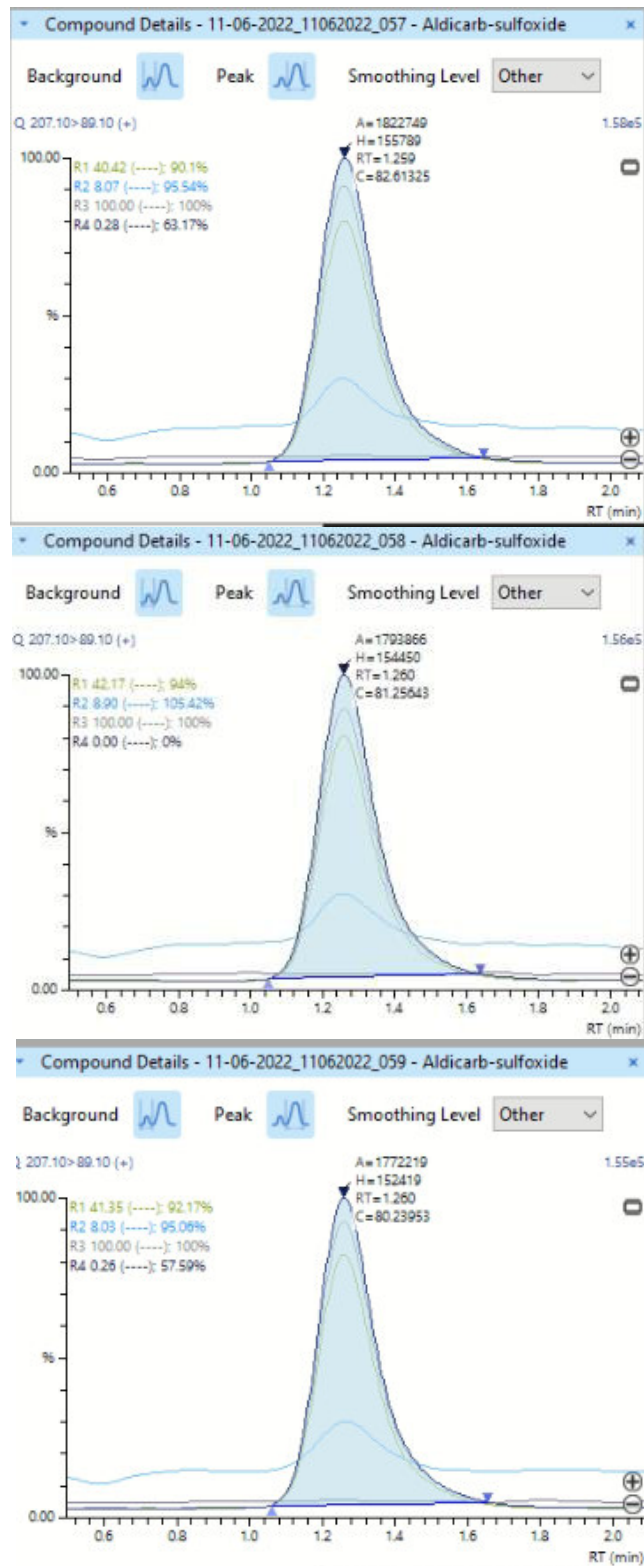
Aldicarb Sulfóxido

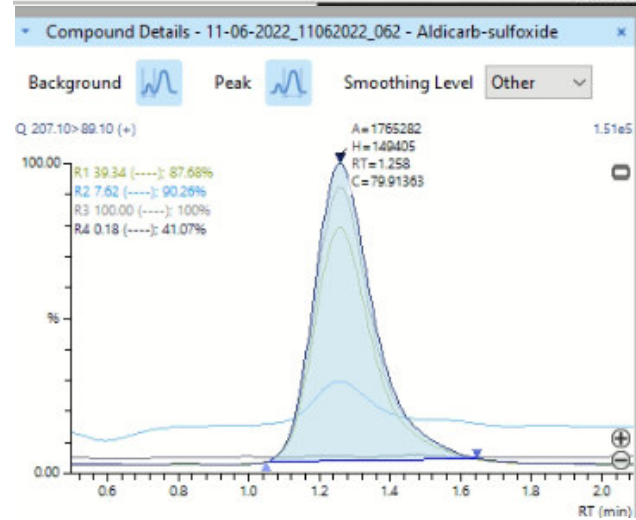
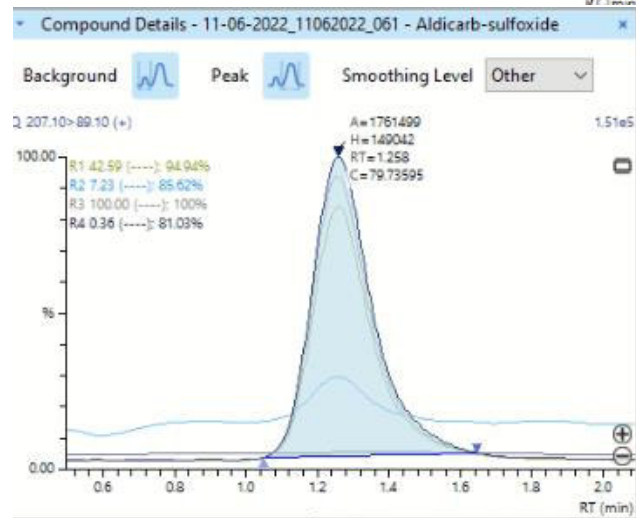
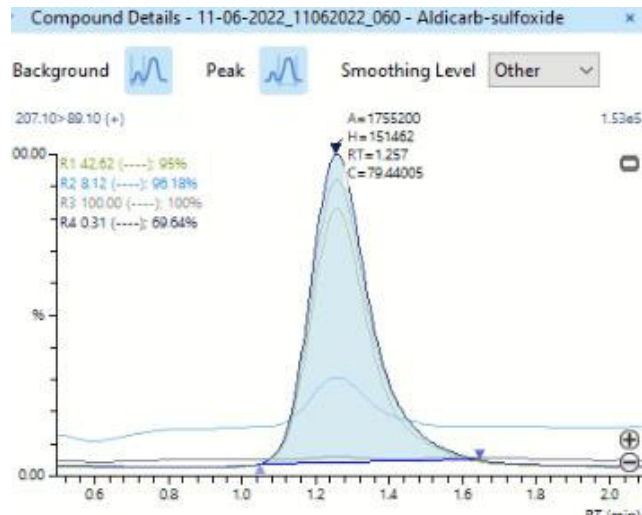


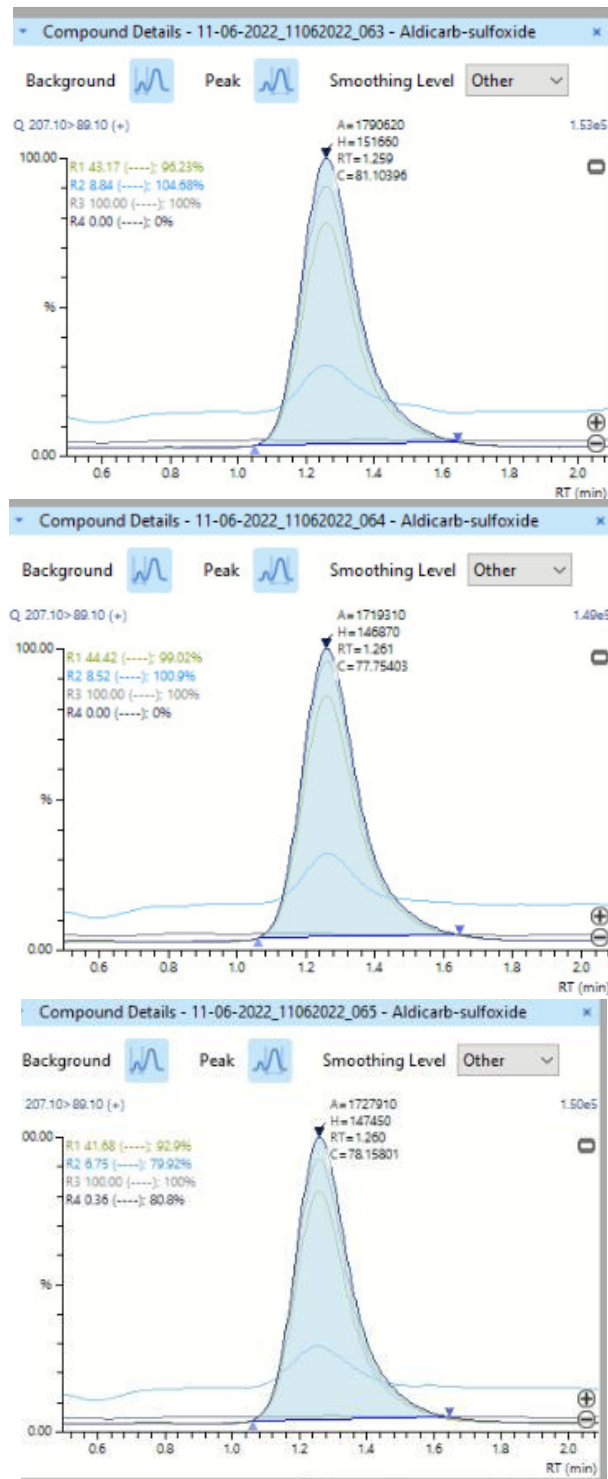




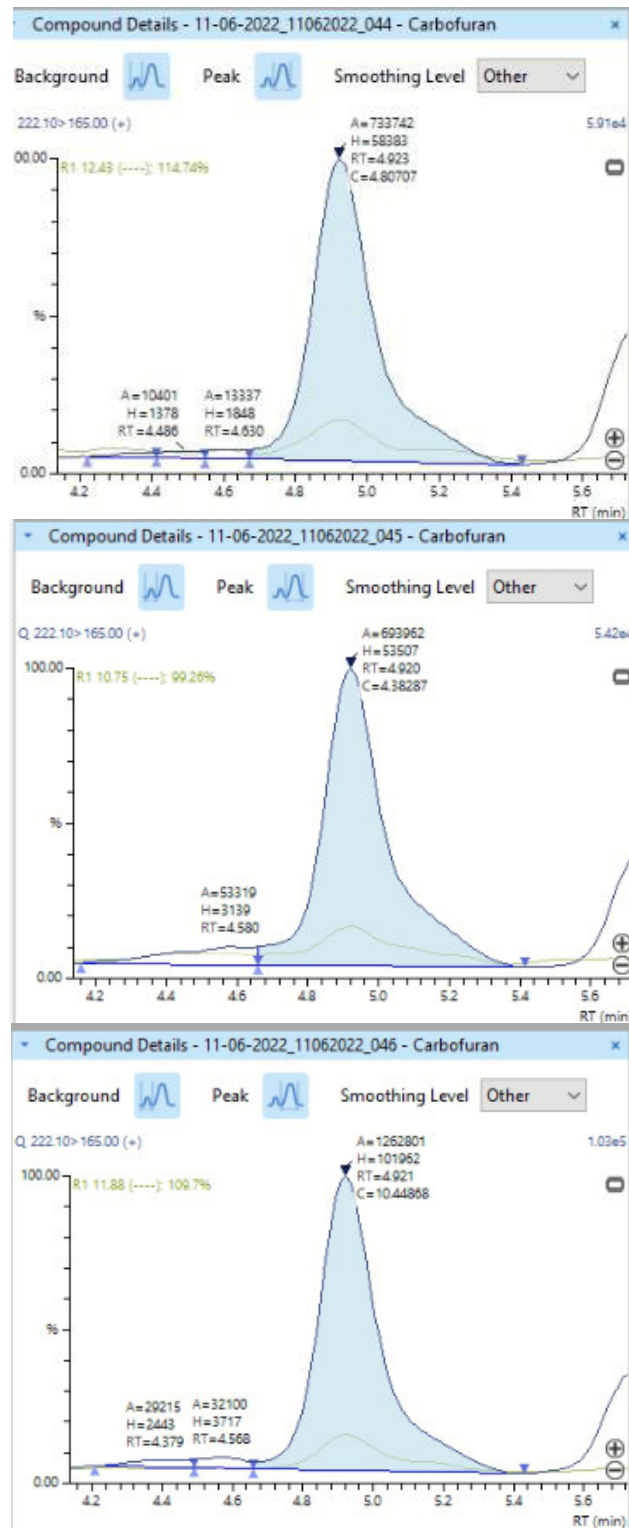


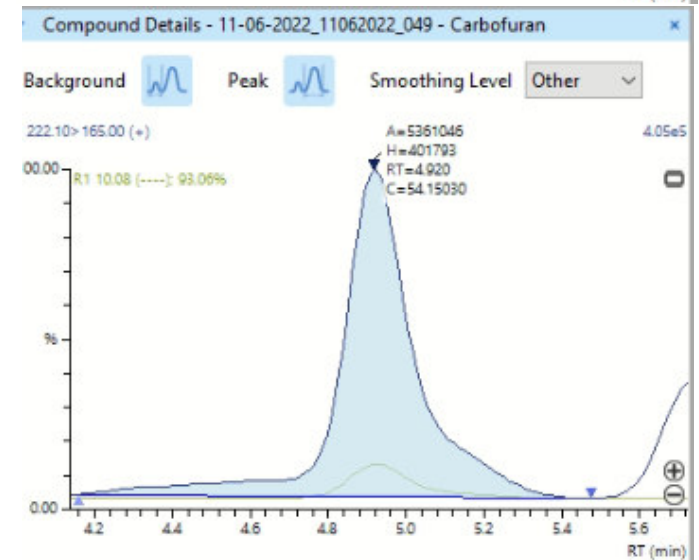
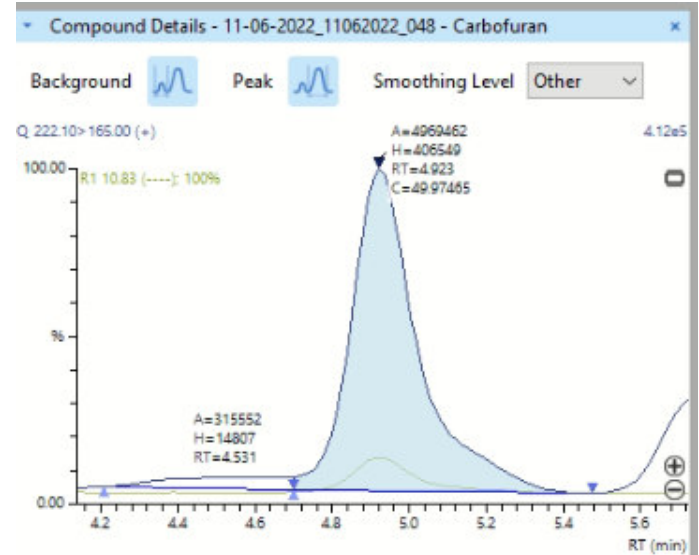
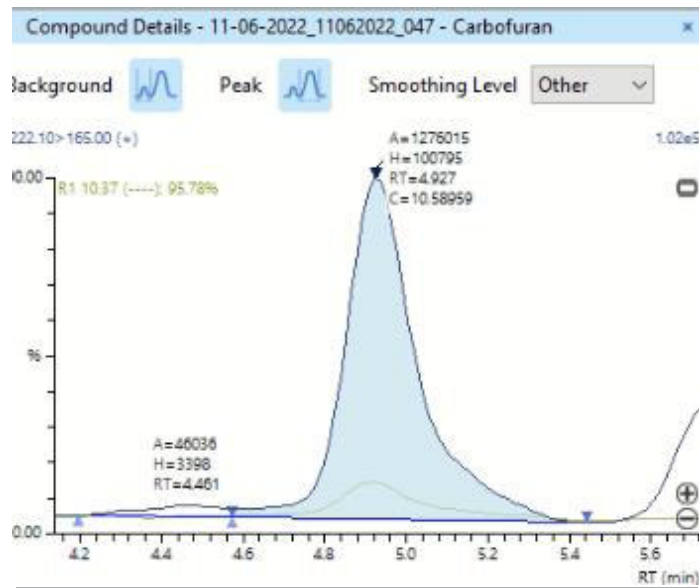


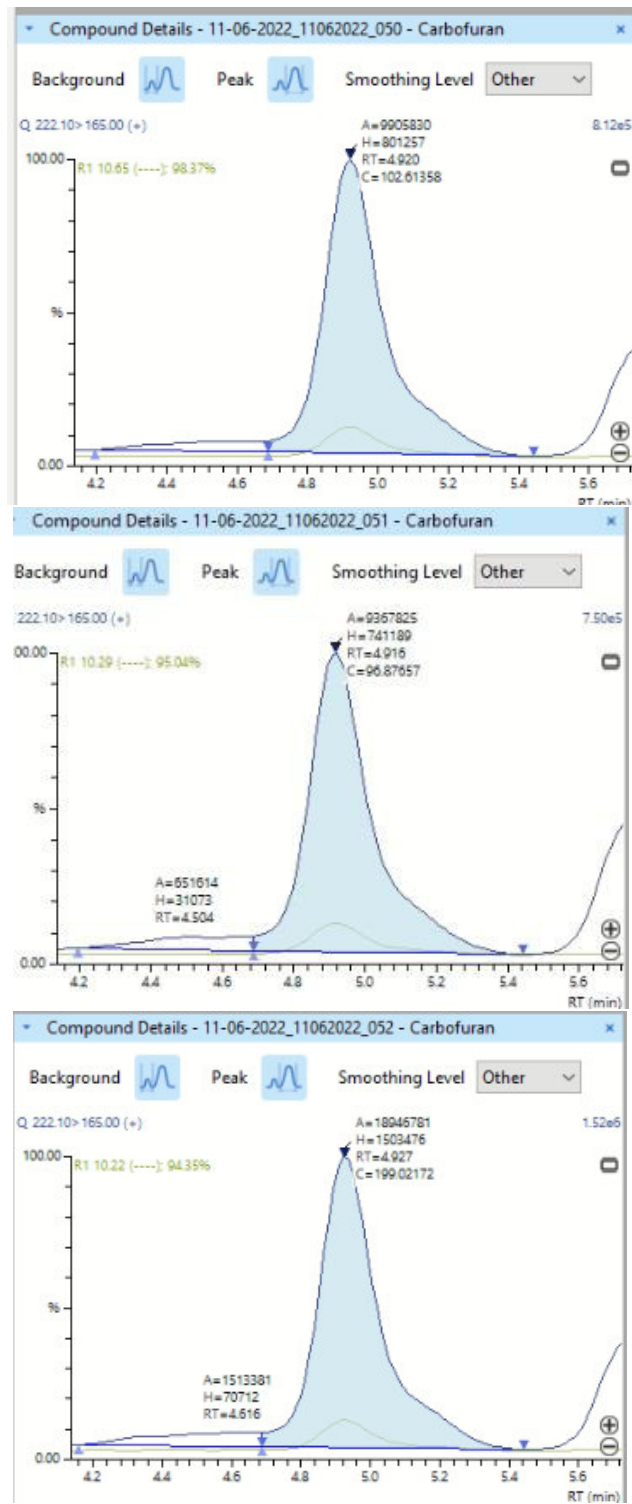


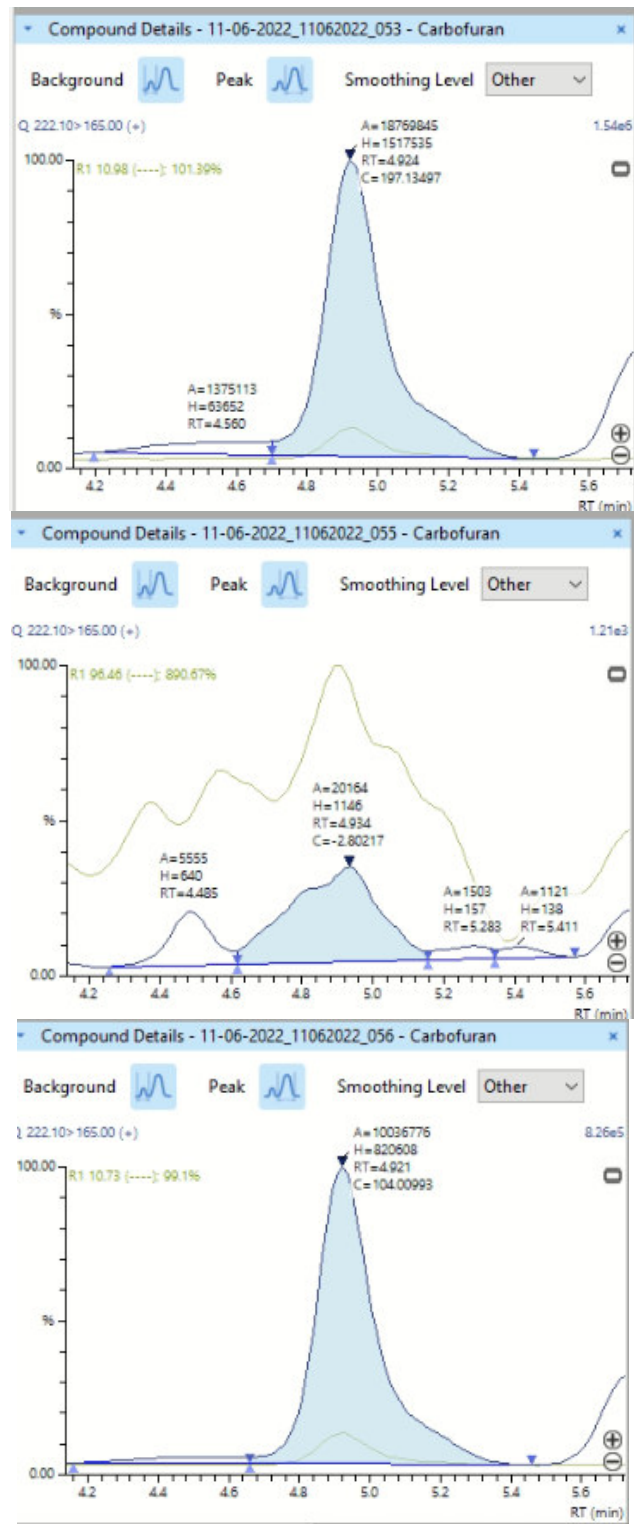


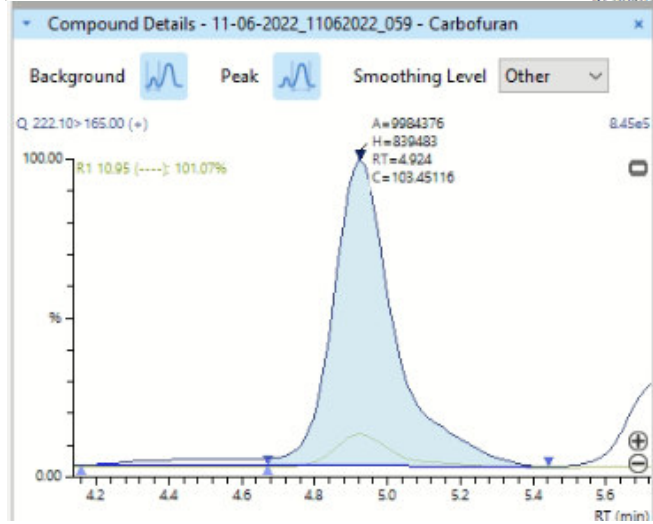
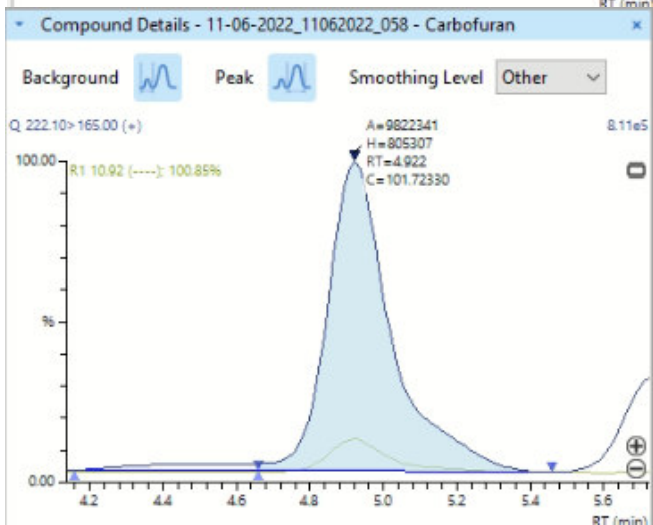
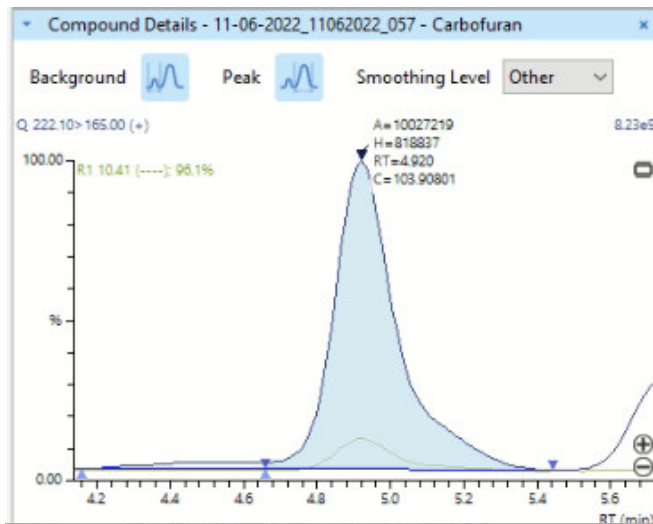
Carbofurano

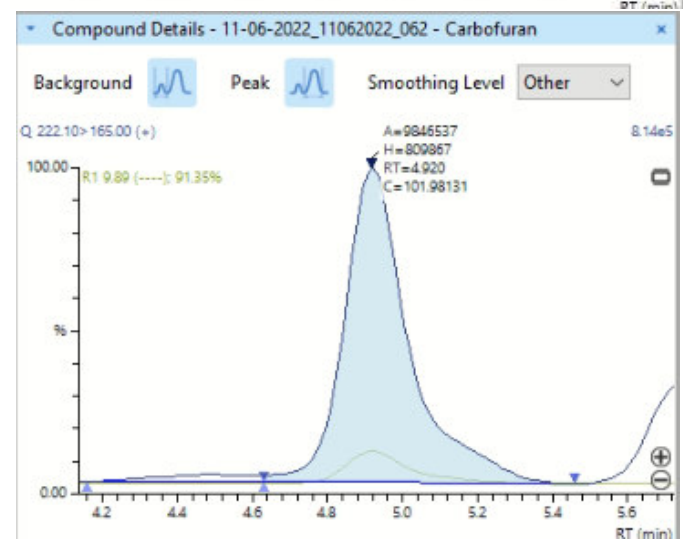
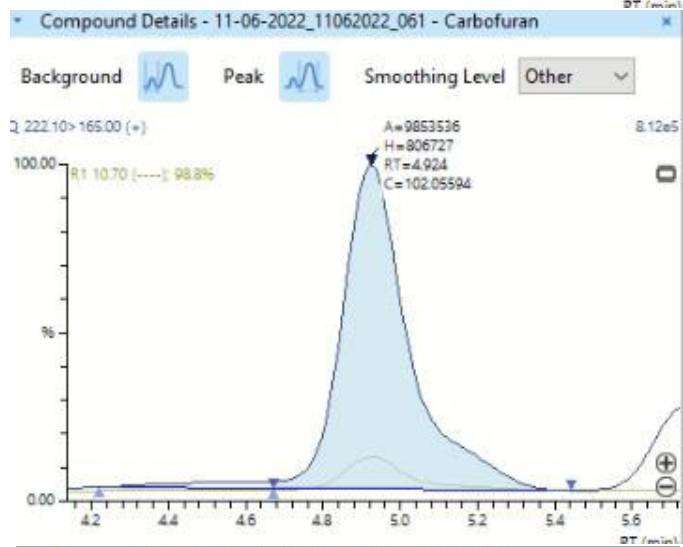
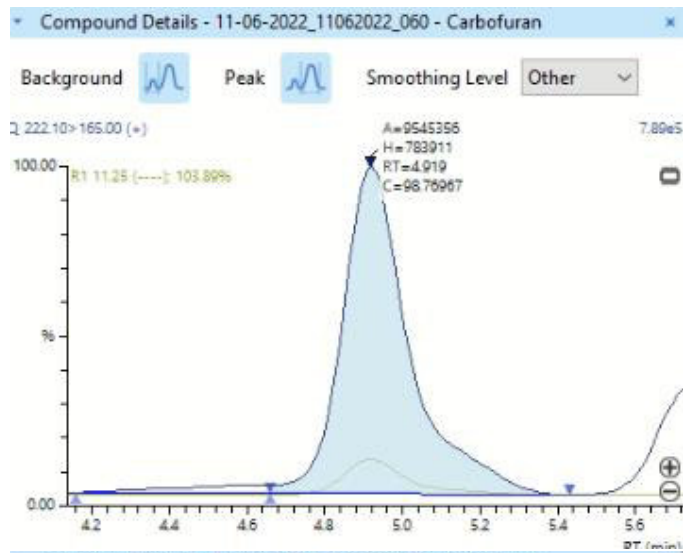


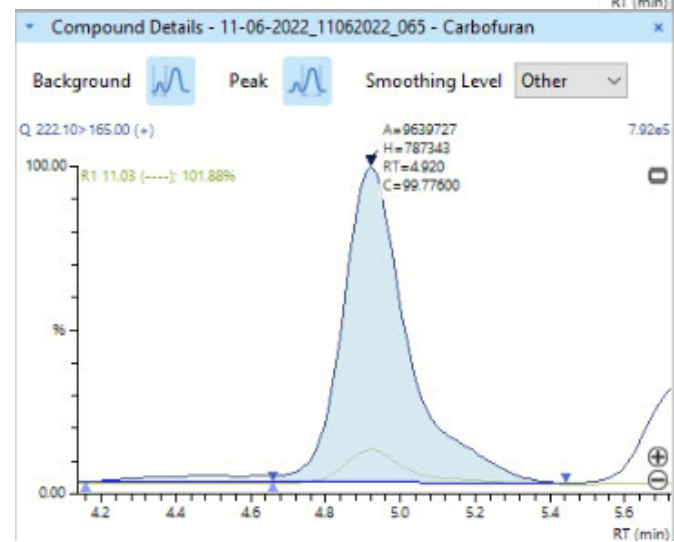
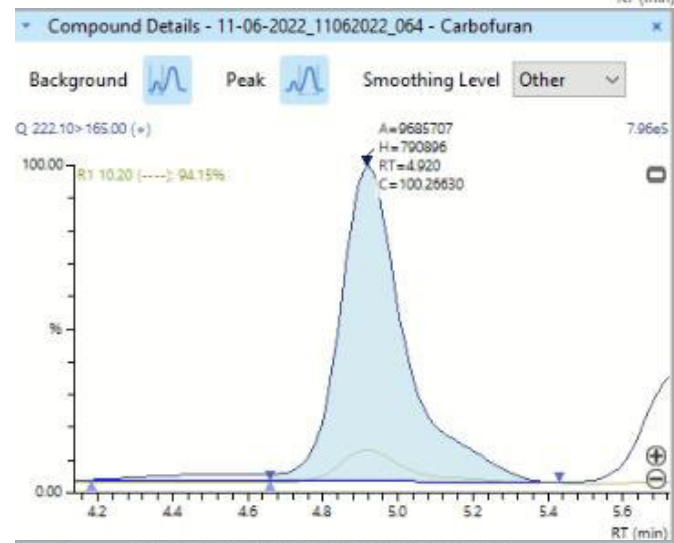
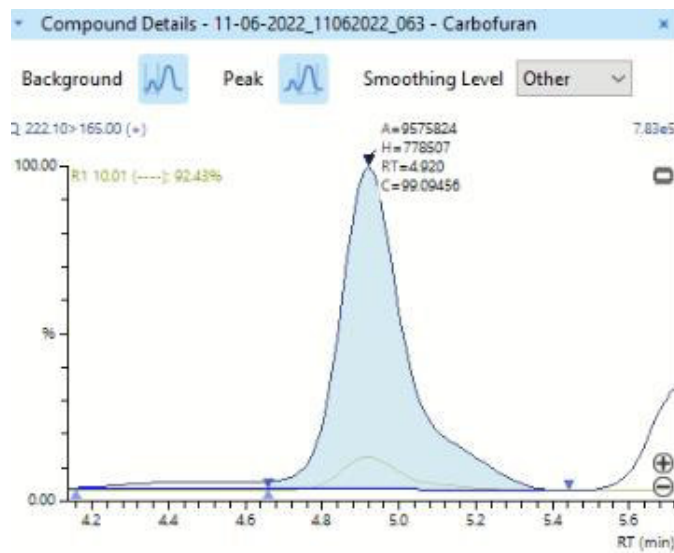












Carbofurano-3-hidroxi

